UNIVERSITÉ DE PARIS

SÉRIE U N° 123 PARIS 1947

THÈSE

POUR LA

FACULTÉ DE PHARMACIE

Présentée et soutenue publiquement le 16 juin 1947
devant la Faculté de Pharmacie de Paris.

PAR

Jean MAINIL

Né le 2 Mai 1919 à Charleroi (Belgique)

Pharmacien,

Diplômé de Microbiologie de la Faculté de Pharmacie

pour obtenir le diplôme de docteur en pharmacie.

Action comparée de la toxine staphylococcique et de quelques ferments d'origine animale et végétale sur l'excitabilité des troncs nerveux moteurs et sensitifs de rana

---

Examinateurs de la Thèse { MM. M. JANOT, Président. G. VALETTE, Y. RAOUL } Assesseurs.

PARIS
LIBRAIRIE ARNETTE
2, RUE CASIMIR-DELAVIGNE, 2

—

1947

UNIVERSITÉ DE PARIS

SÉRIE U N° 123 PARIS 1947

THÈSE

POUR LA

FACULTÉ DE PHARMACIE

Présentée et soutenue publiquement le 16 juin 1947
devant la Faculté de Pharmacie de Paris.

PAR

Jean MAINIL

Né le 2 Mai 1919 à Charleroi (Belgique)

Pharmacien,

Diplômé de Microbiologie de la Faculté de Pharmacie

pour obtenir le diplôme de docteur en pharmacie.

Action comparée de la toxine staphylococcique et de quelques ferments d'origine animale et végétale sur l'excitabilité des troncs nerveux moteurs et sensitifs de rana

---

Examinateurs de la Thèse { MM. M. JANOT, Président. G. VALETTE, Y. RAOUL } Assesseurs.

PARIS
LIBRAIRIE ARNETTE
2, RUE CASIMIR-DELAVIGNE, 2

1947

Personnel de la Faculté de Pharmacie de Paris

ADMINISTRATION :

MM. René FABRE, *Doyen*, ✻, ✪ I.
Henri SOMMELET, *Assesseur*, ✻, ✪ I.
H.-J. LIONNET, *Secrétaire*, ✻, ✪ I.

PROFESSEURS :

MM. SOMMELET, ✻, ✪ I.	Chimie organique.
FABRE, ✻, ✪ I.	Toxicologie.
PICON, ✻, ✪ I.	Chimie minérale.
DELABY, ✻, ✪ I.	Pharmacie chimique.
MASCRÉ, ✻, ✪ I.	Botanique.
SARTORY, C. ✻, ✪ I.	Microbiologie.
FLEURY, ✻, ✪ I.	Chimie biologique.
JANOT, ✪ I.	Pharmacie galénique.
VALETTE, ✪ I.	Zoologie appliquée.
CHARONNAT, ✪ I.	Chimie analytique.
BEDEL, ✻, ✪ I.	Législation, Déontologie et Histoire de la Pharmacie.
PARIS	Histoire naturelle des médicaments simples d'origine végétale.
GUILLOT	Physique.
RAOUL	Professeur sans chaire.

Doyen honoraire : M. RADAIS, O. ✻, ✪ I.

Professeurs honoraires :

MM. DELÉPINE, O. ✻, ✪ I. et LÉBEAU, O. ✻, ✪ I., Membres de l'Institut. PERROT, C. ✻, ✪ I., COUTIÈRE, O. ✻, ✪ I, BOUGAULT, O. ✻, ✪ I., LUTZ, ✻, ✪ I., GORIS, O. ✻, ✪ I., HÉRISSEY, O. ✻, ✪ I., LAUNOY, O. ✻, ✪ I.

MAITRES DE CONFÉRENCES :

MM. GAUTIER, ✪ I.	Sciences physiques et chimiques.
LAMBIN, ✪ I.	Sciences naturelles.
DOMANGE, ✪ I.	Sciences physiques et chimiques.
CRÉTÉ	Sciences naturelles.
COURTOIS	Sciences physiques et chimiques.

CHEFS DE TRAVAUX PRATIQUES :

MM. CORRIEZ, ✪ I.	Physique.
N...	Chimie biologique, Bromatologie et Pharmacie chimique.
MORETTE, travaux pratiques de 2e et 3e années	Chimie analytique.
QUEVAUVILLER	Microbiologie.
HARISPE, travaux pratiques de 1re année	Chimie générale et pharmaceutique.
CAVIER	Micrographie.

Bibliothécaire en chef : M. GARNIER, ✪ A.
Bibliothécaire : Mlle LAVAUD, ✪ A.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

A LA MÉMOIRE DE MON MAITRE,

MONSIEUR LE PROFESSEUR J. RÉGNIER

Professeur de Microbiologie,
Pharmacien des Hôpitaux.

Sa vie m'est un exemple de travail, de conscience et de bonté.

A MON PRÉSIDENT DE THÈSE,

MONSIEUR LE PROFESSEUR M.-M. JANOT.

Qui voulut bien s'intéresser à mon travail
et me fit l'honneur de présider cette thèse.

A Monsieur le Professeur G. VALETTE

Hommage de gratitude pour la bienveillante attention qu'il accorde à cette thèse.

A Monsieur le Professeur Y. RAOUL

Qui a bien voulu faire partie de mon jury de thèse.

BUT DU TRAVAIL

L'hypothèse de parenté, établie par des réactions humorales entre toxine et ferment et ,en particulier, entre la toxine staphylococcique et les ferments, nous a paru mériter d'être controlée dans le domaine physiologique expérimental.

L'action de la toxine sécrétée par le staphylocoque sur la cellule nerveuse nous a semblé constituer un bon procédé d'investigation et devoir être spécialement retenue. Les techniques modernes d'étude de l'exitabilité des nerfs par la méthode chronaximétrique de M. LAPICQUE n'ont été que très peu utilisées de ce point de vue, il en est d'ailleurs de même de l'action des ferments sur les nerfs.

L'action de la toxine diphtérique sur la cellule nerveuse a été envisagée par quelques auteurs : LIEBERSON et ses collaborateurs (52) constatent sur le cobaye présentant une paralysie diphtérique, une augmentation de la chronaxie pouvant atteindre vingt fois la normale, les mesures étant effectuées sur les fléchisseurs et sur les extenseurs. S. SARAGA (105), étudiant cette toxine sur le cœur de mammifère et d'amphibien, note une modification de la fréquence et du rythme due à l'action du poison diphtérique sur le vague.

Toutefois, seule la toxine tétanique, dont l'action neurotrope est bien connue, a fait l'objet d'études approfondies. Citons PELLEZ PLASENCIA et PELOZ MARTINEZ (79) qui ont observé une baisse immédiate et importante de la chronaxie nerveuse et musculaire de la préparation sciatique-gastrocnémien de grenouille, mise au contact d'une dilution de toxine tétanique; ROCCHI (102), qui a publié des expériences dans lesquelles la chronaxie était double ou triple de sa valeur normale. Dans des travaux plus récents, L. et M. LAPICQUE (44), étudiant les réflexes croisés asymétriques, ont

constaté que la toxine tétanique, à petite dose, diminue la chronaxie nerveuse à la façon de la strychnine. H. LENORMANT (46 et 47) a fourni des précisions sur les variations chronaximétriques des troncs nerveux intacts et sectionnés au cours du tétanos expérimental. Enfin, B. et P. CHAUCHARD et H. LENORMAND (12) ont observé, *in vivo* sur le cobaye, après une période de baisse de chronaxie, une montée considérable; selon ces auteurs, la première phase correspond à une action de la toxine sur les centres, la seconde caractérisant une élévation de la chronaxie de constitution qui masque alors l'influence centrale.

En ce qui concerne la toxine staphylococcique, nous n'avons relevé aucune étude chronaximétrique tant sur le nerf moteur que sur le nerf sensitif.

Nous nous proposons donc d'étudier l'action de cette toxine sur la cellule nerveuse motrice et sensitive de Rana Esculenta, ainsi que celle de quelques ferments (pepsine, trypsine, papaïne), sur les mêmes tests. Nous avons cru bon de rappeler, dans une introduction, l'historique, la préparation et les propriétés de la toxine staphylococcique.

Auparavant, nous tenons à rendre hommage à la mémoire de M. le Professeur J. REGNIER, notre regretté Maître, qui voulut bien nous accepter dans son laboratoire et nous confia le sujet de cette thèse.

Nous remercions M. le Professeur JANOT, qui nous prodigua ses conseils pour la rédaction de cette thèse et qui nous fit l'honneur d'en accepter la présidence.

Nous remercions également M. le Professeur VALETTE, qui voulut bien consacrer son attention à notre travail et faire partie du jury et M. le Professeur Y. RAOUL, qui accepta également de faire partie du jury.

M. QUEVAUVILLER, assistant de microbiologie, dont les conseils éclairés et l'expérience technique nous furent d'une constante et précieuse utilité.

Nos camarades de laboratoire, M^lle^ LARTIGAUD, MM. PHAM GIA, JEAN-BAPTISTE, CHAMPAGNE et en particulier Maurice DUBOST dont l'exemple nous fut un continuel encouragement.

INTRODUCTION

La toxine staphylococcique

Parmi les propriétés bien connues du staphylocoque, on sait depuis longtemps que ce germe, comme beaucoup de bactéries, secrète dans son milieu de culture des produits solubles, à pouvoir toxique marqué.

Ch. Dopter et E. Sacquépée (17) relatent des recherches anciennes de Christian et Leber qui ont isolé dans les filtrats de culture, le premier, une substance précipitable par l'alcool, le second, une autre substance (phlogosine) soluble dans l'alcool, et qui montrent toutes deux des propriétés pyogènes.

Dès 1890, divers chercheurs ont entrepris l'étude des produits solubles sécrétés par le staphylocoque, qui favorisent l'action pathogène du microbe et activent les phénomènes suppuratifs. Pour A. Rodet et J. Courmont (103), les filtrats sont peu toxiques et renferment deux séries de substances que les auteurs considèrent comme antagonistes les unes des autres : les unes, précipitables par l'alcool, déterminent surtout des troubles respiratoires et moteurs (convulsions, tétanos); elles sont vaccinantes. Les autres, solubles dans l'alcool, provoquent de l'anesthésie et des troubles cardiaques.

Mosny et Marcano (60) ont obtenu un filtrat toxique pour le lapin : mort rapide à la dose de 10 cm3 par voie intraveineuse dans l'alcool, mort plus lente (5 à 6 semaines) précédée de cachexie, à dose très faible (1 à 2 cm3). Ce filtrat brut, de même que les produits solubles dans l'alcool, n'est pas vaccinant, mais au contraire prédisposant à l'infection staphylococcique.

J. Denys et H. Vandevelde (14), dans un article fonda-

mental paru en 1895, ont démontré l'existence d'une toxine staphylococcique décelable *in vitro* et *in vivo*. Non seulement ces deux auteurs ont montré l'action lytique générale de l'exotoxine qui est susceptible d'attaquer les globules blancs (leucocidine), les globules rouges (hémolysine), les cellules nerveuses (néphrotoxine), mais encore ils ont remarqué que l'injection de l'exotoxine à un animal provoque l'apparition d'antitoxine dans le sérum. Ils ont même réussi à déterminer ainsi une certaine résistance de l'animal traité vis-à-vis de l'infection par le staphylocoque.

En 1901, M. Neisser et Wechsberg (63) ont confirmé l'existence d'une hémolysine staphylococcique.

M. Nicolle et E. Cesari (71), en 1914, ont démontré les trois propriétés fondamentales de la toxine, distinguant le pouvoir hémolytique, le pouvoir léthal et le pouvoir escarrotique, et ont admis que ces trois actions relèvent d'une seule et même substance.

De 1914 à une époque récente, la question de la toxine staphylococcique n'a provoqué que quelques recherches de détail. La plupart des auteurs se sont intéressés à la production de la toxine et L.-E. Walbum (119), en particulier, a précisé l'importance de l'acidité initiale et de certains sels. Mais les filtrats obtenus furent encore peu toxiques.

Un accident dramatique survenu en 1928, à Bundaberg, en Australie, où 12 enfants moururent des suites de la vaccination antidiphtérique, fit rebondir la question. On s'aperçut, en effet, que le mélange neutre de toxine-antitoxine antidiphtérique avait été souillé par un staphylocoque toxigène : la mort des enfants relevait, semble-t-il, d'une intoxication staphylococcique aiguë. Dès lors, en 1929, on s'intéressa de nouveau au problème des sécrétions toxiques du staphylocoque.

F.-M. Burnet (2) apporta des modifications importantes au milieu de production et introduisit la notion fort utile de culture en atmosphère carbonique. O. Gengou (25) revint à diverses reprises sur le rôle des sécrétions toxiques du staphylocoque et sur l'unicité de la toxine.

Bientôt, la découverte par G. Ramon de la transformation de la toxine sous l'influence du formol, fut appliquée à la toxine staphylococcique et celle-ci, transformée en anatoxine pour la première fois par Burnet (2). O. Gengou (26) a montré que l'on vaccine mieux les animaux avec cette anatoxine qu'avec n'importe quel vaccin microbien. Depuis quelques années, divers auteurs ont apporté une contribution importante aux progrès réalisés. Citons, en particulier, P. Nelis (64) en 1934, St Thieffry (114) et J.-Ch. E. Schwartz (110) en 1937, qui ont consacré à la toxine staphylococcique d'importants mémoires, et surtout Ramon et ses collaborateurs qui ont étudié minutieusement, comme nous le verrons plus loin, les conditions de la production de la toxine, de l'anatoxine et du sérum et apporté une contribution fort importante à l'anatoxithérapie contre les affections à staphylocoque (93).„

Production de la toxine staphylococcique

La production d'une toxine dépend, on le sait, de deux facteurs principaux : la souche toxigène et le milieu de culture. Le problème est particulièrement complexe pour le staphylocoque. St. Thieffry (114) fait justement remarquer que « beaucoup de souches staphylococciques ne donnent pas de toxine, et parmi celles qui en donnent, on constate des différences énormes suivant la composition du milieu, la durée d'incubation, l'acidité... Il arrive que deux milieux identiques, ensemencés avec la même souche, dans des conditions comparables, donnent des toxines de valeur différentes. »,

M. Monin (58) a récemment insisté sur le fait que des variations spontanées du pouvoir pathogène du staphylocoque peuvent exister non seulement dans l'organisme, mais encore en milieu de culture artificiel, et P. Mercier (55) a pu vérifier que ni la pigmentation de la souche, ni son pouvoir

pathogène ne peuvent faire préjuger des qualités toxigènes des staphylocoques. Trois souches sélectionnées sont couramment utilisées en France : la souche dite de Wood, staphylocoque blanc isolé par F.-M. Burnet de brûlures étendues, la souche 72 de P. Nelis (Staphylocoque doré) et la souche Lavialle de P. Mercier.

Nombreux sont les milieux qui ont été proposés pour la production de toxine staphylococcique. Rappelons pour mémoire :

— Le milieu de Nicolle et Cesari, bouillon Martin glucosé filtré après 5 jours d'étuve.

— Le milieu de Dumas, composé de peptone, chlorure de sodium, glucose.

— Le milieu de Gross, bouillon ordinaire additionné de 1 à 4 % de Peptone de Witte.

— Le milieu de Walbum, au cœur de bœuf, peptone, PO^4H^2K et SO^4Mg. Cet auteur a montré l'importance, contestée depuis par E.-P. Casman (11), de petites quantités de K et Mg dans l'apparition de la toxine, et fixé entre pH 6 et 6,6 l'optimum de réaction. J. Parker (75) a légèrement modifié ce milieu, F.-H. Burnet (1), se servant d'un milieu semi-liquide type Walbum, a étudié minutieusement l'action qu'exerce sur la production de la toxine l'absence ou la présence d'anhydride carbonique dans l'atmosphère où évoluent les cultures. D'après lui, le staphylocoque doré ne produit de lysine *in vitro* qu'en présence de CO^2. Il a préconisé une atmosphère contenant 20 % de CO^2 et 80 % d'air.

S. Ohashi et L.-Y. Hong (72) ont prétendu que le taux optimum de CO^2 est de 60 %. St. Thieffry (114), utilisant un milieu à base de digestion pepsique de panse de porc et viande de veau sous atmosphère carbonique, a montré qu'une proportion de glucose de 1,5 % était favorable.

Stockey et Scarpellino (113), Schwartz (109) estiment au contraire que l'addition de sucre est inefficace.

D'après Hans Gross (34-35) qui recherchait des hémolysines très actives, il conviendrait d'employer des milieux à base d'hémoglobine de lapin, de cheval ou d'homme, ou

encore de sérum humain ou de lapin, que le milieu soit solide ou liquide.

Jamieson et Powell (36) obtiennent des filtrats toxiques à partir de bouillons tamponnés avec des phosphates ainsi que dans de la gélose demi-solide, avec ou sans pression élevée d'acide carbonique, et leurs meilleures toxines sont obtenues dans une gélose demi-solide préparée avec du bouillon de veau stérilisé par filtration.

C.-H. Kellaway, F.-H. Burnet et F.-E. Williams (39) cultivent un staphylocoque blanc sur plaques de gélose en présence d'anhydride carbonique, pendant 48 heures. La toxine sécrétée sur un tel milieu nécessite, à cause de son impureté, d'en comparer les effets avec ceux du liquide partant d'une gélose non ensemencée.

P. Nelis (65) s'est bien trouvé de l'utilisation d'un milieu composé uniquement de l'autodigestion pepsique de panse de porc. G. Ramon, Berthelot et M^lle^ Amoureux (92) ont fait connaitre un milieu à base de bouillon de rate de veau, riche en nucléo-protéides et acides aminés, substances dont O. Gengou (29) avait déjà montré l'action favorisante. Mais Ramon a surtout préconisé avec ses collaborateurs, les milieux utilisés pour la toxine diphtérique : soit bouillon de panse de porc, soit bouillon Martin, soit bouillon à base de digestion pepsique de viande de veau sans glucose ni acétate, soit encore bouillon à base de digestion papaïnique de viande de cheval (95). Les différents milieux ajustés au départ à pH 7,5, sont répartis à raison de 1 litre par ballon, en fioles de Fernbach à 2 tubulures latérales, de 2 litres de capacité. On stérilise à 105° pendant 40 minutes et, après refroidissement, on ensemence avec la souche 72 de Nelis ou la souche Lavialle de Mercier, par addition de 1 cc. de bouillon ordinaire ensemencé, avec la souche choisie, 16 à 24 heures avant. On laisse pousser à 37° en atmosphère normale pendant 16 à 18 heures, puis on fait circuler un mélange d'air et CO^2 à 20-25 % de ce dernier. Pour cela les ballons sont réunis en série, par des tubes de caoutchouc qui assurent la circulation du mélange carbonique fourni par une bouteille. Un double

détendeur et un compte bulles permettent de régler la circulation du gaz à raison d'une bulle toutes les deux secondes environ. Au bout de six jours, les bouillons sont réunis puis filtrés sur terre d'infusoires ou filtre Seitz, puis sur bougie L3. On obtient ainsi des toxines titrant 8 à 20 unités antigènes.

Rappelons que l'on entend par unité antigène la quantité de toxine neutralisée par une unité antitoxique (unité établie d'après les conventions du Comité d'étalonnage de la S.D.N. et représentée par 0,5 milligramme d'un sérum étalon desséché).

G. Ramon A. Boivin et R. Richou (94) sont arrivés à obtenir une bonne toxine sur milieu synthétique avec la souche Wood. Dans ce milieu, l'azote est fourni par un mélange d'acides aminés additionnés de deux facteurs de croissance indispensables : l'acide nicotinique et l'aneurine ou vitamine B_1.

On fait dissoudre à chaud 15 gr. de gélatine dans 100 cc. d'acide sulfurique 2 N, puis on chauffe la solution pendant 3 à 4 heures à l'autoclave sous 2 kg. de pression ; toutes les chaînes polypeptidiques sont rompues et les acides aminés se libèrent. On se débarrasse de l'acide sulfurique par la baryte en évitant soigneusement tout excès de ce dernier réactif. On ajoute à l'hydrolysat les acides aminés qui n'existent pas dans la gélatine : 0,1 gr. de tyrosine ; 0,1 gr. de cystine ; 0,05 gr. de tryptophane ; puis 7 gr. de phosphate monopotassique et 5 gr. de citrate trisodique. On complète à 1 litre avec de l'eau distillée, on amène le pH à 7,4 et on stérilise à 110°.

D'autre part, on dissout 4 gr. de glucose, 0,10 de SO^4 Mg., 1 milligramme d'acide nicotinique et un vingtième de milligramme d'aneurine dans 20 cc. d'eau distillée et l'on stérilise à 110°.

Finalement, les deux solutions sont réunies aseptiquement et le mélange est abandonné à 37° pendant 48 heures, pour en contrôler la stérilité. R. Richou et M. Djourichitch (100) ont constaté que l'anatoxine préparée à l'aide d'une toxine

obtenue à partir de ce milieu a un pouvoir immunisant au moins égal aux anatoxines provenant de milieux non synthétiques. G. Leonard et A. Holm (49) ainsi que G.-P. Gladstone (30) ont également obtenu de bonnes toxines à l'aide de milieux synthétiques.

Signalons enfin qu'une certaine sélectivité du milieu a été mise en évidence vis-à-vis des souches généralement utilisées. En effet, G. Ramon (83 et 94) a insisté sur le fait que la souche Wood, qui fournit une toxine relativement très active en milieu à base de rate de veau, donne de moins bons résultats dans le milieu à base de macération de viande de veau. Pour la souche 72 de Nelis, c'est l'inverse.

Pour en terminer avec les milieux de culture favorisant la toxinogenèse, nous citerons P. Mercier et J. Pillet (56), puis P. Mercier et Y. Lehoult (57) qui, récemment, ont proposé un milieu à base d'hydrolysat de viande de cheval permettant d'obtenir, sans courant de CO^2, une toxine staphylococcique titrant environ 10 unités antigènes.

Propriétés de la toxine staphylococcique

Ainsi qu'il ressort principalement des recherches de Nicolle et Césari (71), la toxine staphylococcique montre trois grandes propriétés principales.

On a caractérisé en effet :

1° Un pouvoir lytique vis-à-vis de beaucoup de cellules de l'organisme, en particulier des éléments sanguins (leucocytes, hématies, hématoblastes) et des cellules nerveuses. L'action se manifeste avec une intensité variable sur les globules rouges de lapin, mouton, chèvre, bœuf, et souvent aussi d'homme. Elle n'existerait pas, d'après Flaum et Forssman (18), vis-à-vis des hématies de cobaye et de cheval.

Cette action lytique disparaît par chauffage à 55-60°. Selon J. Beumer (3 et 4), l'hémolysine est particulièrement sensible à certaines températures critiques en dehors desquelles une

partie des substances toxiques seraient thermostables. Cette thermorésistance est d'ailleurs modifiée par le saccharose. L'action lytique est empêchée par les acides sulfurique, chlorhydrique, salicylique, oxynaphtoïque, benzoïque ; par les sels de quinine [P. Nelis (64)], l'huile pure, l'acide oléique et les savons [Schwartz (109)]. Elle est neutralisée *in vitro* par le sérum de cheval [J. Beumer (5)]. Selon Seiffert (110), l'hémotoxine se fixe sur les hématies par l'intermédiaire des substances lipoïdiques. Il se formerait un complexe lipido-staphylo-toxine qui, en altérant la perméabilité globulaire, produirait l'hémolyse.

2° Un pouvoir dermonécrotique, qui se rattache au pouvoir lytique, bien que J. Parker (76) ait donné à la dermatoxine une individualité propre.

Sur le lapin, l'inoculation intradermique de 1/10e de cc. de toxine sur la peau du ventre provoque l'apparition d'une escarre sèche, après 48 heures. Pour des doses plus faibles, on n'observe qu'une papule rosée. Les animaux réagissent différemment selon leur immunité antitoxique humorale. G. Ramon (84) [et L. Schioppa (108)] a récemment montré qu'un excès de vitamine A dans l'organisme favorise la résistance locale des tissus vis-à-vis de la toxine staphylococcique. Cette action nécrosante est amoindrie par le chlorure de sodium [R.-H. Rigdon (101] et la glycérine [M.-L. Smith (111)].

3° Un pouvoir toxique, qui se manifeste principalement sur le cœur et le système nerveux. Cette action a été bien étudiée par St. Thieffry (114) sur le cobaye et le lapin. L. Schioppa (107) a signalé que cette toxicité est atténuée par injection d'eau salée physiologique. Si l'administration par voie sous-cutanée provoque une escarre, la voie veineuse détermine des accidents rapides, caractérisés par une action cardiaque, de l'arythmie respiratoire et des désordres nerveux. Claude, dès 1896, obtenait, ainsi que l'a rappelé récemment J.-E. Paillas (73), des myélites toxiques d'allure hémorragique en injectant de la staphylotoxine ; on trouve

histologiquement de nombreuses hémorragies du tronc cérébral et du cortex.

Par voie rachidienne (injection faite au niveau du rachis lombaire), on note une paralysie du train postérieur.

Par voie sous-occipitale, H. Bonnet et P. Nelis (6) ont observé des troubles de la motilité, des contractures, de l'exophtalmie et de l'horripilation. La mort survient par arrêt respiratoire précédant l'arrêt cardiaque. Par voie intracérébrale, Travassos (115) a noté une action tétanisante et convulsivante.

Retenons que la toxine apparaît donc avant tout comme un poison cardiaque par voie veineuse, puisque les troubles respiratoires sont, dans ce cas, manifestement secondaires et terminaux. Par voie sous-occipitale au contraire, l'arrêt respiratoire est le phénomène primitif ; on peut en effet prolonger la vie de l'animal par la respiration artificielle.

La toxine staphylococcique agit aussi sur le sang, le foie et les reins. Joyner, Rigdon et Hore (37) ont observé *in vivo*, chez le lapin, une leucopénie et une hyperplasie de la moelle osseuse. Sur le même animal, S. de Navasquez (62) a constaté qu'une injection inframortelle de toxine provoque une baisse légère de la pression sanguine suivie d'une augmentation de l'hyperglycémie et de la glycosurie. Ces symptômes n'apparaissent pas chez les animaux dont on a excisé les surrénales. Le foie présente les lésions anatomiques du « foie toxique » [P. Nelis et E. Picard (70)]. Sur le rein, on observe une nécrose de la couche corticale due vraisemblablement à l'action directe de la toxine sur les artères et sur l'épithélium tubulaire [J.-H. Glynn (32)].

Enfin, rappelons que la toxine staphylococcique possède des propriétés antigéniques, c'est-à-dire qu'elle fait naître dans les humeurs de l'animal auquel elle est injectée, des anticorps susceptibles de neutraliser son action toxique. Kraus et Pribram (43) ont ainsi préparé, en 1906, un sérum antitoxique de chèvre, Borrel et Bride ont préparé un sérum de cheval qui a servi aux expériences classiques de Nicolle et Cesari (71). L'Institut Pasteur prépare un sérum

antistaphylcoccique titrant 150 à 300 unités, selon une technique calquée sur cello de la préparation du sérum antidiphtérique. Il est possible de faire disparaître les propriétés toxiques de la toxine en gardant ses propriétés antigéniques, en la transformant en anatoxine. Cette transformation s'effectue selon C. Ramon et R. Richou (88) en ajoutant un filtrat toxique 3,5 cc. de formol par litre et en portant à l'étuve à 39° pendant 10 jours.

Dosage de la toxine staphylococcique

(G. Ramon et R. Richou) (89)

Deux aspects sont à considérer : le pouvoir toxique et le pouvoir antigénique.

Leur détermination se fait par diverses méthodes, maintenant classiques, que nous allons passer rapidement en revue.

A. - DOSAGE DES POUVOIRS TOXIQUES.

1. — Dose minima hémolytique : cette mesure consiste à déterminer la plus petite dose de toxine qui provoque l'hémolyse de globules rouges de lapin dans des conditions bien déterminées. On met en présence des quantités croissantes de toxine et une quantité constante d'hématies de lapin. Le sang est prélevé à la veine marginale de l'oreille de l'animal et lavé avec de l'eau physiologique citratée stérile. On centrifuge puis lave deux fois avec de l'eau physiologique ; on amène à trois fois le volume primitif pour obtenir une suspension de globules dite au tiers .

Dans une série de tubes à hémolyse, on distribue les quantités de toxine et d'hématies au 1/3 indiquées par le tableau :

TITRAGE DE LA TOXINE STAPHYLOCOCCIQUE

TUBES	1	2	3	4	5	6	7	8
Toxine au 1/10e	0,5	0,2	0,1					
— au 1/100e				0,5	0,3	0,2	0,1	0
Eau physiologique	1,5	1,8	1,9	1,5	1,7	1,8	1,9	2
Hématies 1/3..	1 gout.	1 g.	1 g.	1 g.	1 g.	1 g.	1 g.	1 g.
Dilution en toxine pure..	1/40	1/100	1/200	1/400	1/660	1/1000	1/2000	néant

On porte à l'étuve à 37° pendant 30 minutes. Si l'hémolyse apparaît à partir du tube 4, on dit que la dose minima hémolytique égale 1 quatre centième.

2. — Dose minima nécrosante : elle consiste à déterminer la plus petite dose de toxine provoquant, par injection intradermique, l'apparition d'une escarre sèche chez le lapin. Sur le flanc rasé de l'animal et en des points suffisamment éloignés, on injecte 1/10 cc, de cette toxine à différentes dilutions. On note la dose pour laquelle une escarre est apparue 48 heures après l'injection.

3. — Dose léthale : TRAVASSOS (115) a proposé de définir la dose minima mortelle (D.M.M.) comme la plus petite quantité de toxine qui, inoculée par voie transoculaire dans le cerveau des cobayes de 250 à 350 gr., produit systématiquement une chute avec mouvements tétanisants dans les 30 première minutes et la mort dans les 24 heures.

B. - TITRAGE DU POUVOIR ANTIGÈNE.

I. — DOSE TEST HÉMOLYTIQUE : la dose test hémolytique ou dose combinée hémolytique est la plus petite quantité de toxine qui, ajoutée à une unité antitoxique, est capable d'hémolyser en totalité une goutte de globules rouges de lapin, lavés trois fois et dilués au tiers. Dans une série de tubes à hémolyse, on verse 1 cc. d'une dilution de sérum étalon telle

que 1 cc. égale 1 unité antitoxique, puis des quantités croissantes de la toxine à titrer, par exemple :

0,05 cc. — 0,07 cc. — 0,10 cc. — 0,12 cc. — 0,15 cc....

On amène le volume à 2 cc. par addition d'eau physiologique. On agite et on porte à l'étuve pendant 1 heure à 37°, puis à température du laboratoire pendant 1 heure.

Le premier tube pour lequel l'hémolyse est totale donne la dose test hémolytique.

2. — Appréciation de la valeur floculante : le phénomène de floculation. observé pour la première fois par G. Ramon avec la toxine diphtérique, est applicable à la toxine staphylococcique. Si l'on prépare une série de mélange de filtrat staphylococcique et de sérum spécifique en proportions variables, l'apparition de la floculation (floculation initiale) désigne à l'expérimentateur le mélange où la toxine et l'antitoxine se sont mutuellement et exactement saturée [G. Ramon, H Bonnet, P. Nelis, R. Richou et St. Thieffry (88)].

Pour évaluer par cette méthode le pouvoir antigène de la toxine staphylococcique, on prépare une série de tubes contenant 5 cc. du filtrat staphylococcique et on ajoute dans ces tubes des volumes décroissants d'une dilution dans l'eau physiologique de sérum étalon à 50 unités antitoxiques par cc., par exemle : 1,6 cc. — 1,4 cc. — 1,2 cc. — 1 cc. — 0,8 cc. — 0,7 cc.— 0,6 cc. — Après avoir bien mélangé, on porte à l'étuve à 45°. On examine fréquemment les mélanges de façon à surprendre le début de la floculation initiale. Si celle-ci apparaît dans le mélange contenant 5 cc. de toxine et 1 cc. de dilution de sérum, soit 50 unités, il faut, d'après le principe même de la floculation, 50 unités antitoxiques pour neutraliser 5 cc. de la toxine, c'est-à-dire 10 unités pour 1 cc. de toxine. Le titre de cette toxine est donc égal à 10 unités antigènes.

C'est là, d'après Ramon et ses collaborateurs, la méthode de choix pour l'évaluation du pouvoir antigène intrinsèque de la toxine staphylococcique et, partant, de l'anatoxine correspondante.

3. — Nature du pouvoir staphylococcique.

a) *Unicité ou pluralité de la toxine.*

Et tout d'abord, peut-on parler d'*un* poison staphylococcique ? Neisser et Wechsberg (63) ont constaté que certaines souches ne produisaient pas d'hémolysine mais produisaient la toxine. Ils ont conclu à la dualité des deux substances. Gengou (25), au contraire, a observé qu'un filtrat privé d'activité hémolytique et toxique par contact avec des hématies de lapin, a perdu en même temps le pouvoir de détruire les globules blancs. Il conclut à l'identité de la leucocidine et de la toxine.

Pike (78) a reconnu l'existence, dans certains filtrats de staphylocoques, d'un pouvoir empêchant la phagocytose sans destruction de leucocytes. Cette substance se distinguerait de la leucocidine parce qu'elle n'est pas antigénique et qu'elle est thermostable, et de la toxine, parce que sa production n'est pas favorisée par la culture en atmosphère carbonique.

Much (61), puis Kleinmilch (41) ont signalé que les cultures de staphylocoques provoquent la coagulation du plasma oxalaté, puis une lyse du caillot. Etudiée par Gratia (33), cette *staphylocoagulase* est présente, comme l'a montré Gengou (27), dans les cultures en bouillon oxalaté, centrifugées et chauffées 30 minutes à 60°, comme dans les cultures totales vivantes.

Les particularités suivantes la distinguent de la toxine (Van Breuseghem, 116-117-118) : elle résiste à 100°, elle n'est pas filtrable sur filtre Berkefeld, elle n'est pas adsorbée par les globules rouges, son apparition dans les cultures n'est pas favorisée par l'anhydride carbonique, elle est favorisée par l'alcalinité des milieux. En outre, cette staphylocoagulase est privée de pouvoir antigène (R. Cruickshank) (14).

Madison (54) a montré que certains staphylocoques de suppurations profondes secrètent une fibrinolysine capable de dissoudre la fibrine et qui serait douée de pouvoir antigène (E. Netter, 70).

Birch-Hirschfeld (7) a obtenu, en adsorbant le complexe toxique sur kaolin, une staphyloprotéinase capable d'hydro-

lyser la gélatine, la caséine, la peptone de Witte et le fibrinogène.

Fibrinolysine et *staphyloprotéinase* seraient différentes de la *staphylocoagulase* et de la *toxine*. On a également signalé la présence dans les cultures d'une *tributyrinestérase* et d'une *anticoaguline*.

Enfin, si Dolman (16) pense que les intoxications alimentaires sont exceptionnelles, selon Wolpert et Dack (120) les staphylocoques secrèteraient, en outre, un poison gastro-intestinal, ayant provoqué des accidents à la suite d'ingestion de lait souillé, vraisemblablement distinct de la toxine puisqu'il n'est pas neutralisé par le sérum antitoxique et se montre plus résistant à la chaleur.

On voit donc les filtrats de cultures staphylococciques sont doués de propriétés nombreuses, sans rapport apparent avec la toxine proprement dite, à pouvoir hémolytique, nécrosant et toxique. Schaaf et Robert (106), expérimentant sur l'utérus de cobayes femelles traités préalablement par des quantités croissantes de staphylotoxine, d'anastaphylotoxine ou de staphylotoxine inactivée par chauffage à 100°, ont observé une contraction du muscle ultérin après addition *in vitro* de l'antigène ayant servi à l'immunisation, en rapport avec la sensibilité à l'antigène de l'animal dont cet organe a été isolé. Ils en ont déduit l'existence, dans les filtrats de cultures staphylococciques, de 4 substances antigènes :

Deux substances A et C thermostables, mais l'une résistante au formol, l'autre labile.

Deux substance B et D thermolabiles, l'une résistante au formol, l'autre non.

Le problème de l'unité ou de la pluralité de la toxine est donc réellement posé. Nombreux sont les expérimentateurs qui l'ont résolu de façon différente :

Burnet (2) a soutenu la théorie de l'unité de la toxine par des arguments très convaincants : les trois propriétés (hémolytique, nécrosante, léthale) apparaissent simultanément dans les cultures, le dosage de l'une permet de prévoir l'activité des deux autres. Enfin et surtout la neutralisation par le

sérum antitoxique est égale et proportionnelle pour les trois pouvoirs, quels que soient le sérum et la toxine antistaphylococcique mis en présence.

Gengou (28) a fortifié l'hypothèse uniciste par des expériences d'épuisement de la toxine par des globules rouges. D'après lui, la toxine traitée par les hématies perd son pouvoir sur les leucocytes et les hématoblastes ainsi que son pouvoir léthal.

Nelis (66) également met en contact pendant 3 heures, à la température du laboratoire, 1 cc. de toxine et 10 cc. de globules rouges. Il observe que ce contact fait perdre à la toxine aussi bien ses propriétés hémolytiques que ses propriétés nécrosantes.

Pourtant, les pluralistes ne manquent pas non plus d'arguments : l'action de la chaleur n'est pas constante sur les filtats ; de plus, des filtrats provenant de souches différentes ne contiennent pas les mêmes proportions relatives d'hémolysine, de toxine nécrosante, de toxine mortelle pour le lapin.

C'est ainsi que H. Gross (34) reconnaît que l'hémolyse, la leucocidie, la nécrose et la toxicité appartiennent à la même substance ; mais alors qu'elle est détruite par chauffage à 60°, la staphylocoagulase résiste à 80° et constitue un principe différent. Ajoutons que ce même auteur (35) conçoit, de plus, trois coagulases permettant de classer les staphylocoques en trois groupes, les uns fortement hémolytiques, les autres peu hémolytiques et nécrosants, mais très coagulants, les derniers peu hémolytiques, mais peu coagulants. Pourtant, Panton et Valentine (74) constatent que la staphylolysine et la toxine nécrosante varient en intensité dans le même sens, sans aucune relation avec la staphylocoagulase ; en outre, certaines souches fournissent une toxine à hémolysine faible et à leucocidine active.

Nelis (67) a montré que l'action du formol est irrégulière. Il existe des filtrats formolés qui ont perdu leurs propriétés hémolysantes et sont encore mortels pour le lapin, en injection intra-veineuse. Nelis conclut à l'existence d'une « paratoxine » résistante au formol. Ramon et Richou (91) rap-

portent des faits analogues observés avec des mélanges apparemment neutres de toxine et d'antitoxine staphylococciques (méthode de floculation). Ils font remarquer que ces mélanges ne tuent pas tous les lapins mais seulement quelques animaux. Ils en concluent que ces mélanges réellement neutres ne contiennent pas une variété de toxine qui aurait échappé à la neutralisation, mais tuent certains lapins naturellement hypersensibles, par un phénomène de choc.

Nous avons déjà noté la variabilité d'action des filtrats sur les différents globules animaux. Selon GLENNY et STEVENS (31), cette différence ne peut s'expliquer par la sensibilité variable des hématies selon leur provenance animale, mais par l'existence de deux toxines staphylococciques α et β dont ils résument ainsi les propriétés :

La toxine α lyse les globules de mouton et de lapin, la toxine β ne lyse pas ceux de lapin. Les globules humains sont plus résistants à la toxine α que ceux de mouton [T.-E. ROY (194)]. Par injection intradermique au cobaye, la toxine α est nécrosante, la toxine β ne produit pas de nécrose mais une simple rougeur. Par injection intraveineuse ou intrapéritonéale à la souris, la première est mortelle, la seconde ne tue pas. Les deux variétés de toxine sont toutes deux antigènes et les sérums anti-α et anti-β neutralisent spécifiquement la toxine correspondante. On peut séparer l'hémolysine β de l'α par la chaleur (55° pendant 30 minutes), par neutralisation de l'α par l'anticorps correspondant, par le formol [M. L. SMITH et S.-A. PRICE (113)]. Pour d'autres auteurs, il y aurait trois variétés de toxine. MORGAN et GRAYDON (59), s'appuyant sur des différences de neutralisation d'un même sérum antitoxique par deux filtrats inactifs sur les globules de mouton, concluent à l'existence d'une nouvelle variété de toxine $\alpha\beta$, qu'ils nomment α^2. Pour KOJIMA et KODAMA (42), L.-M. BRYCE et P.-H. ROUNTREE (8), il y aurait une hémolysine α, une hémolysine β, et une hémolysine $\alpha\beta$.

Terminons avec les partisans de la pluralité de la toxine en citant J. PARKER, WELD et GUNTHER (76) qui, traitant 2 cc. de filtrat staphylococcique par 1 cc. de stromas globu-

laires, ont obtenu la fixation de la leucocidine et de l'hémolysine, sans altération de la toxine nécrosante.

Mais Levine (50) n'est pas de cet avis ; en utilisant la même technique, il a trouvé récemment que les effets hémolytiques dermonécrotiques et léthaux de la toxine étaient les propriétés d'une seule et même molécule ; pour lui, l'unité de la toxine ne fait aucun doute.

Il est donc vraisemblable que les anomalies que l'on observe dans les propriétés des filtrats sont dues aux substances accessoires qui accompagnent souvent la toxine spécifique, à savoir le principe hémolytique, escarotique et léthal. Comme le fait remarquer Schwartz (109), « l'intérêt prépondérant que certains leur ont porté obscurcit l'étude de la toxine et leur rôle dans les affections naturelles à staphylocoques est incertain. »

Malgré les faits expérimentaux apparemment contradictoires, il semble qu'il est permis de parler de la staphylotoxine. Quelle est donc la nature de cette substance ?

b) *Nature fermentaire de la toxine staphylococcique.*

P. Gastinel (77) est d'avis qu'il s'agit incontestablement d'un ferment trypsique. Cette façon de voir permet de relier entre eux des phénomènes aussi éloignés des uns et des autres que la liquéfaction de la gélatine, l'action hémolytique et l'acton nécrosante. Dans les trois cas, il s'agirait de digestion de matières protéiques.

J. Forssman (19), étudiant la staphylolysine, la rapproche des ferments plutôt que des hémolysines d'immunisations en raison de sa propriété d'être absorbée par les globules et libérée ensuite par l'hémolyse. Il est utile de signaler que Fr. Lieb et W. Reichelt (51) quelques temps auparavant avaient reconnu que les staphylocoques pathogènes décomposent les acides aminés avec plus d'intensité que les staphylocoques banaux.

Dans le même ordre d'idées, rappelons que H. Lenormant (47) pense que l'activité du poison tétanique ressemble beau-

coup à celle des diastases, à tel point qu'on est en droit de se demander s'il ne s'agit pas d'un véritable enzyme.

Cette conception est très intéressante du point de vue théorique, car elle montre la possibilité d'obtenir un antiferment, par l'inoculation du ferment trypsique, transformé lui-même en anaferment. La démonstration expérimentale en a été faite récemment par G. Ramon (85) qui a montré que, sous l'action combinée du formol et de la chaleur, agissant dans des conditions bien déterminées la papaïne peut perdre ses pouvoirs toxiques et enzymatiques en conservant ses qualités immunisantes ; elle peut donc se transformer en anapapaïne qui provoque chez les animaux auxquels on l'injecte l'apparition d'une antipapaïne douée de propriétés floculantes et neutralisantes à l'égard de la papaïne.

Il en est de même, ainsi que l'a montré le même auteur (86). du ferment gélatinolytique du filtrat de culture tétanique. Il a souligné, à cette occasion, les analogies qui, du point de vue de l'immunologie, existent respectivement entre les toxines, anatoxines, antitoxines d'une part, les ferments, anaferments et antiferments d'autre part.

Enfin, dernièrement, cet auteur (87) a prouvé que le sérum sanguin des animaux auxquels on injecte un ferment, contient, à côté du principe antizymique normal s'exerçant aussi bien contre la gélatinase du Bacillus Subtilis que contre d'autrès protéases telles que celles de la papaïne ou de la pepsine, un antiferment tout à fait spécifique, véritable anticorps, possédant tous les caractères des anticorps microbiens.

MÉTHODE UTILISÉE
ET SUBDIVISIONS DE L'EXPOSÉ

Nous nous sommes adressé, pour l'étude de la toxine staphylococcique et des ferments, à la technique pharmacodynamique que J. Regnier (96) a proposée pour la comparaison de l'activité des anesthésiques locaux et qu'il a perfectionnée depuis, en collaboration avec A. Quevauviller (97). Nous avons fait porter cette étude sur les troncs nerveux moteur et sensitif et nous avons expérimenté avec la toxine staphylococcique et divers ferments tels que pepsine, trypsine et papaïne.

Notre travail se présente donc comme il suit :

Dans la *première partie*, nous étudions l'action de la toxine et des ferments sur le nerf moteur après avoir rappelé succinctement, dans le *premier chapitre*, les fondements théoriques de la méthode et la technique utilisée ; nous exposons les essais auxquels nous avons procédé pour obtenir la toxine staphylococcique, puis nous étudions l'action sur le nerf des milieux de culture servant généralement de véhicule à la toxine, afin de pouvoir tenir un compte judicieux des effets spécifiques de cette dernière que nous étudions dans le *deuxième chapitre*.

Dans le *troisième chapitre*, nous passons à l'étude de la pepsine, de la trypsine et de la papaïne. Nous comparons ensuite les résultats obtenus.

La *deuxième partie* porte sur l'étude du nerf sensitif itératif. Nous rappelons les données théoriques de la méthode et nous décrivons la technique dans le *premier chapitre*.

Dans le *deuxième chapitre,* nous étudions l'action de la toxine.

Dans le *troisième chapitre,* l'action des ferments, puis nous comparons les résultats obtenus.

Enfin dans la conclusion, nous discutons, à partir de nos données expérimentales, le rôle qui peut être attribué à une action fermentaire dans l'activité neurotrope de la toxine staphylococcique.

PREMIÈRE PARTIE

Action de la toxine staphylococcique et des ferments sur le nerf moteur

CHAPITRE I

FONDEMENTS THÉORIQUES DE LA MÉTHODE

L'excitabilité d'un nerf isolé tel que le sciatique de Rana Esculenta peut s'exprimer de façon satisfaisante au moyen des deux valeurs rhéobase et chronaxie.

LAPICQUE appelle rhéobase l'intensité de courant galvanique donnant le seuil pour un temps de passage de longue durée, supérieure au temps utile. On l'exprime par un voltage, pour autant que la détermination s'effectue sous résistance invariable.

La chronaxie est le temps minimum de passage du courant nécessaire pour obtenir une réponse, avec une intensité double de la rhéobase. On désigne la chronaxie par τ : c'est l'expression de cette variable en σ, c'est-à-dire en millième de seconde. Le muscle ayant la même chronaxie que le nerf, selon la loi d'isochronisme de LAPICQUE, la chronaxie du sciatique correspond à la durée nécessaire pour obtenir la réponse du gastrocnémien.

Les recherches de L. LAPICQUE et de son école ont montré que si, théoriquement, les deux termes ont la même importance pour caractériser un certain état d'excitation, prati-

quement la chronaxie est seule significative des propriétés intimes du tissu excitable parce qu'elle est indépendante, dans de très larges limites, des conditions expérimentales.

Ce fait a incité J. Regnier (96) à utiliser les variations de ce paramètre sous l'influence des anesthésiques locaux pour évaluer le pouvoir anesthésique relatif de ces substances. Dès 1926, il a ainsi mis au point, sur les troncs nerveux moteur et sensitif, une méthode expérimentale de mesure basée sur les faits suivants : sous l'influence de doses convenables de chlorhydrate de cocaïne, la chronaxie baisse jusqu'à un certain minimum ou plateau, puis remonte, sans toutefois atteindre sa valeur primitive. La rhéobase suit une évolution à peu près inverse, mais plus tardive, c'est-à-dire montée puis plateau ou chute.

De plus, J. Regnier a remarqué que, dans certaines limites, la baisse maxima de chronaxie est d'autant plus forte que la concentration d'anesthésique est plus élevée. Il a donc proposé de tracer, pour chaque corps étudié, une courbe concentration-action en portant en abscisses les concentrations, et en ordonnées les baisses maxima moyennes pour cent de chronaxie. En comparant les diverses courbes de forme parabolique ainsi obtenue, il a pu exprimer le pouvoir anesthésique de nombreux corps de synthèse, par rapport à celui de la cocaïne.

Depuis, cette méthode a été l'objet de critiques d'ordre pratique et d'ordre théorique, qui ont obligé à la perfectionner et à la compléter. Du point de vue partique, Laubender (45) lui a reproché de n'être pas générale et de ne pouvoir s'appliquer par exemple à la percaïne. De longues recherches ont montré que cette anomalie était due à la substance étudiée et non à la méthode. Kahlson et Werz (38) sont arrivés à cette même conclusion par une technique toute différente. Du point de vue théorique, on lui a reproché (J. Sivadjian) de mesurer, non pas une diminution d'excitabilité, mais une hyperexcitabilité prénarcotique. Cette objection est tombée lorsqu'on a démontré expérimentalement que l'excitabilité baisse dès les premières minutes d'action

de la solution d'anesthésique local. En effet, comme l'a toujours affirmé LAPICQUE, la variation de l'excitabilité n'est pas nécessairement parallèle à la variation de chronaxie. C'est pourquoi de nombreux auteurs se sont attachés à résoudre le problème de l'expression d'excitabilité.

H. LASALLE a proposé de l'exprimer par l'inverse de l'énergie électrique dépensée pour déclencher l'excitation. Supposant la résistance du tissu constante, il a défini cette énergie par l'expression $I^2 \tau$, où I représente le voltage rhéobasique et τ la chronaxie. L. LAPICQUE a admis que cette conception pouvait donner des résultats significatifs dans des conditions qu'il a précisées et qui sont justement celles des études pharmacodynamiques effectuées par J. REGNIER. Cependant, cet auteur, avec H. CARDOT, avait observé que certains composés chimiques modifiaient la résistance du nerf. J. REGNIER et A. QUEVAUVILLER ont donc pensé qu'il serait plus précis de faire intervenir dans le calcul de l'excitabilité la résistance du tronc nerveux envisagé. Pour cela, ils ont proposé d'exprimer l'excitabilité, au moment de la détermination de la rhéobase et de la chronaxie, par l'inverse de l'énergie électrique réellement dépensée entre les électrodes pour déclencher l'excitation. Le travail fourni est donné par le produit $R\ (2I)^2\ \tau$, R étant la résistance, I la rhéobase, t le temps, c'est-à-dire la chronaxie. L'excitabilité trouve donc son expression algébrique dans l'expression $\frac{1}{R\ (2\,I)^2\ \tau}$.

Pour mesurer les divers termes de cette expression, les auteurs ont complété le montage classique de détermination de la chronaxie par les courants rectangulaires, et mis au point une technique qui a permis de mesurer dans un temps très court, et suivant un protocole toujours semblable, le voltage rhéobasique, la résistance du nerf au courant galvanique et sa chronaxie. La résistance s'obtient par substitution au nerf d'une boîte de résistances, connaissant, grâce à un galvanomètre balistique, la quantité d'électricité passée dans le segment nerveux, les conditions ayant été précisées

et discutées. L'intensité I s'obtient par étalonnage du galvanomètre ou mieux par un calcul simple basé sur la connaissance de V et de R.

La technique actuelle comporte les déterminations suivantes :

V : voltage rhéobasique exprimé en volts ;

I : intensité rhéobasique exprimée en microampères ;

τ : chronaxie exprimée en millième de seconde ;

R : résistance, en milliers d'ohms, de la portion de nerf placée entre les électrodes ;

E : excitabilité tirée de l'expression $\frac{1}{R\,(2\,I)^2\,\tau} \times 10^3$.

Cette méthode a permis d'étudier l'action sur le nerf moteur du chlorhydrate de cocaïne et d'anesthésiques locaux synthétiques tels que la novocaïne et la percaïne. Elle a permis en particulier de confirmer les faits depuis longtemps constatés à propos des modifications dans la résistance du nerf, variables avec les corps expérimentés et se traduisant, par exemple, par une baisse dans le cas de la cocaïne et de la novocaïne, et fréquemment par une remontée dans le cas de la percaïne, l'excitabilité baissant dans tous les cas, O. Gaudin (22) l'a également employée pour étudier l'action des pyréthrines sur le nerf moteur. Plus tard, A. Quevauviller (81) l'a encore utilisée pour l'étude des sels de quinine et a remarqué notamment une action sur la résistance dans le même sens que celle de la percaïne. Cet auteur a émis l'hypothèse que cette action spéciale est due au noyau quinoléique.

Quoi qu'il en soit, l'appareillage et la technique ont été suffisamment décrits, dans les publications de J. Regnier et A. Quevauviller et dans la thèse de ce dernier, pour qu'il soit inutile d'y revenir ici. Nous n'avons fait que substituer aux diverses substances anesthésiques et alcaloïdiques étudiées par les auteurs précités, les toxines et les ferments que nous nous proposions d'étudier.

Avant de passer à l'exposé des résultats obtenus, nous allons rappeler les essais que nous avons faits pour préparer la toxine staphylococcique.

PRÉPARATION DE LA TOXINE STAPHYLOCOCCIQUE

Le problème de la production d'une toxine staphylococcique est plus complexe que le laisse prévoir l'exposé que nous en avons tracé au cours de l'introduction du présent travail. D'ailleurs, le nombre de milieux proposés par les différents auteurs qui se sont attachés à la question, aussi bien que celui des souches de staphylocoque qui ont été expérimentées sur ces milieux, témoignent assez de la difficulté de l'entreprise.

En ce qui nous concerne, cette difficulté se trouvait accrue par le fait que nous avions besoin d'une toxine de titre élevé, afin de diminuer l'importance de l'action éventuelle du milieu support de la toxine sur le nerf. De plus, la plupart des milieux indiqués comme propices à la production de toxine sont à base de viande de veau ou de panse de porc et les circonstances ne nous ont pas permis de nous procurer commodément ces produits d'origine animale, en sorte que nous nous sommes vu contraints de faire appel au milieu synthétique mis au point par Ramon, Boivin et Richou. Des souches nous ont été fournies par l'Institut Pasteur de Garches, grâce à l'amabilité de M. le Professeur Ramon.

La technique suivie a été la suivante : le milieu est réparti dans les fioles de Fernbach de 1 litre à 2 tubulures, à raison de 250 cc. de milieu par fiole. La stérilité de l'opération est contrôlée par un séjour de 48 heures de ces fioles à l'étuve à 37°.

D'autre part, la veille de l'ensemencement, on prépare, à partir de la souche, des cultures en tubes contenant du milieu liquide de façon à pratiquer l'ensemencement des fioles de Fernbach avec un germe de 24 heures au plus. Cette opération s'effectue à la pipette en ayant soin d'amener la culture de staphylocoque jeune à la surface du liquide et la mise à l'étuve des fioles ensemencées se fait avec de grandes précautions afin d'éviter toute agitation. Après 24 heures

d'étuve, on fait passer dans les fioles un mélange d'air et d'anhydride carbonique (80 % d'air — 20 % de CO^2). Selon Nitti, on place les fioles à l'étuve à 36° et on fait circuler immédiatement le mélange carbonique (CO^2 : 30 % — air : 70 %) en réglant le bulle à bulle à 60 bulles par minute.

Après 6 à 7 jours d'étuve, on filtre sur filtre Seitz, puis sur bougie Chamberland L3. A défaut de filtre Seitz, on centrifuge ou, si l'on traite de grosses quantités de toxine, on filtre sur terre d'infusoires mais avec très peu de terre. Un procédé pratique consiste à mettre 0,50 gr. environ de terre d'infusoires en suspension dans 10 à 20 cc. d'eau et à en humecter un filtre sans plis ordinaire. Notons enfin qu'il est important d'employer la plus petite bougie possible ; si le dégrossissement a été bien effectué, la filtration est rapide. Pour fixer les idées, indiquons qu'une grande bougie Chamberland L3 permet de filtrer environ vingt litres de milieu.

La conservation du milieu comme de la toxine s'effectue à la glacière.

L'action de l'air est nuisible, aussi on agitera le moins possible au cours des opérations de récolte ou d'emmagasinage.

La conservation du pouvoir toxigène de la souche doit retenir l'attention de façon toute spéciale. Nitti recommande de repiquer toutes les semaines sur gélose au bouillon de viande ordinaire, ajustée à pH 7,8, de laisser pousser 24 heures à l'étuve à 37°, puis de conserver les cultures à la température du laboratoire. Nos souches provenant de l'Institut Pasteur de Garches, nous avons préféré nous en tenir aux procédés employés dans les laboratoires d'origine ; la souche est entretenue sur gélose au bouillon de viande, ajustée à pH 7,0 ; elle est repiquée, en principe, toutes les quatre semaines ; cependant, on effectue un repiquage supplémentaire après trois semaines et un autre après cinq semaines. Chacune des souches ainsi obtenues sert aussitôt à un essai de fabrication de toxine et on ne conserve que celle qui fournit une sécrétion active. Cette souche toxigène fait l'objet de la même sélection après trois, quatre et cinq semaines.

Pour l'évaluation de la toxicité des bouillons récoltés, nous avons eu recours aux procédés devenus classiques et cités plus haut : mesure de la dose minima hémolytique, de la dose minima nécrosante, puis de la dose test hémolytique et de la valeur floculante.

Les meilleures toxines sont hémolytiques aux dilutions de 1/10.000, sont nécrosantes au 1/5.000, titrent 15 unités toxiques par la méthode de floculation initiale et 0,07 cc. neutralise 1 unité antitoxique tout en hémolysant 1 goutte d'hématies de lapin préparées (dose test hémolytique). Les toxines préparées par nous étaient hémolytiques à 1/400 et même 1/600 ; elles étaient alors nécrosantes pour une dilution de 1/500 et titraient 4 unités floculantes. Enfin, la recherche de la dose test hémolytique indiquait que 0,15 cc. de toxine, en présence de 1 unité antitoxique, hémolysait 1 goutte d'hématies de lapin.

Même, en faisant varier un ou plusieurs facteurs séparément ou simultanément (souche, technique d'ensemencement, teneur de l'atmosphère en CO^2, procédé de récolte), nous n'avons pu obtenir de résultat supérieur à celui que nous signalons. Peut-être cet échec est-il dû à l'usage d'un milieu synthétique qui, somme toute, ne présente pas les qualités biologiques d'un milieu naturel, ou bien aux conditions dans lesquelles nous avons opéré : taille des flacons, éclairement, température de l'étuve.

C'est pourquoi, afin d'étudier sur le nerf des toxines aussi actives que possible, nous nous sommes adressés à l'Institut Pasteur, dont les services du Professeur Ramon ont bien voulu nous confier la toxine staphylococcique employée pour la préparation de l'anatoxine. Dans les pages qui suivent, nous exposons les résultats obtenus avec deux toxines staphylococciques, l'une obtenue à partir d'une souche de 72 Nelis sur milieu R.A.P., titrant 11 unités antitoxiques, l'autre à partir d'une souche Wood, sur milieu synthétique et titrant 15 unités antitoxiques.

CHAPITRE II

ÉTUDE DU MILIEU NON TOXIQUE SUR LE NERF MOTEUR

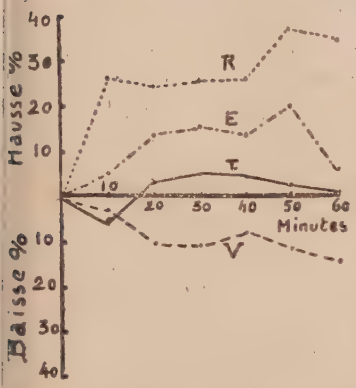
Il était important de ne pas attribuer à la toxine des variations de l'excitabilité dues seulement au milieu de culture lui servant de véhicule. C'est pourquoi nous avons commencé nos essais par une série d'expériences ayant pour but de préciser l'action sur le nerf, d'une part, du bouillon de viande peptoné salé, d'autre part, du milieu synthétique de Ramon, Boivin et Richou.

ACTION DU BOUILLON DE VIANDE ORDINAIRE.

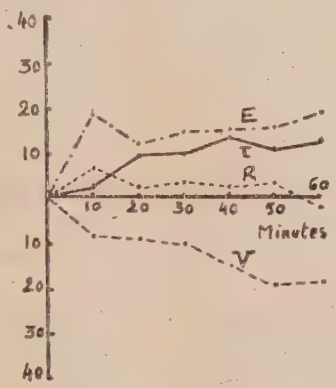
Nous avons étudié trois taux de dilution de ce milieu ; 5 cc., 10 cc. et 50 cc. complétés à 100 cc. avec du liquide de Ringer. Chaque dilution a fait l'objet d'un minimum de 4 essais et les variations, dont les graphiques 1, 2 et 3 rendent compte, représentent les moyennes de ces expériences. On voit que la chronaxie τ subit des modifications notables dès que l'on dépasse une teneur en bouillon de 5 pour 100. La rhéobase V baisse de façon nette, même aux faibles doses. La résistance R augmente sans que l'on puisse voir dans ce mouvement de hausse une action directe de concentration en bouillon, puisque le maximum de hausse atteint 17,5 % pour une teneur de 5 % de bouillon, retombe à 5 % seulement pour le taux de 10 % et remonte à 15 % pour le taux de 50 %. La hausse d'excitabilité E est proportionnelle à l'aug-

mentation du titre en bouillon de viande du liquide de Ringer (graphiques 1 à 3).

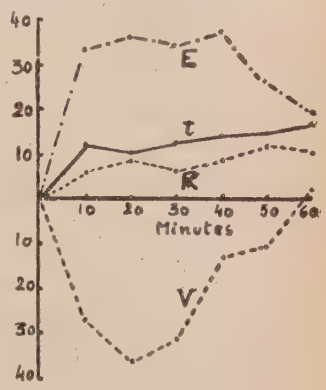
Le milieu synthétique agit, dans l'ensemble, de façon analogue, sauf en ce qui concerne la résistance. Les faibles



Graphique 1
5 % de bouillon peptoné



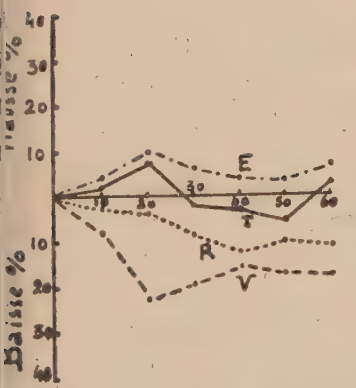
Graphique 2
10 % de bouillon peptoné



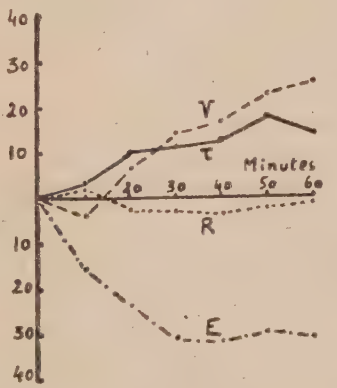
Graphique 3
50 % de bouillon peptoné

teneurs (5 %) abaissent la rhéobase, augmentent, puis abaissent légèrement la chronaxie et diminuent la résistance. L'excitabilité se trouve finalement augmentée (graphique 4).

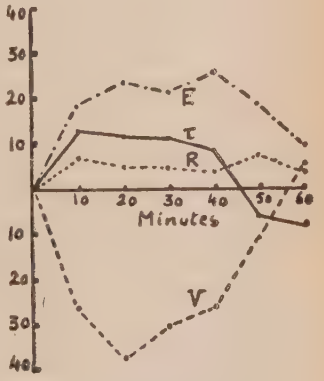
Pour les doses moyennes telles que 10 %, on constate des variations semblables à celles que l'on observe avec le bouillon de viande (graphique 5).



Graphique 4
5 % de bouillon synthétique



Graphique 5
10 % de bouillon synthétique



Graphique 6
50 % de bouillon synthétique

Enfin, lorsqu'on aborde les fortes teneurs en milieu synthétique, on constate des variations importantes : la rhéobase baisse dans les deux cas jusqu'à atteindre, dans le même temps, un maximum identique (37 % à la 20e minute) ; la remontée s'effectue ensuite de façon semblable. La chronaxie subit une hausse avec les deux milieux, tout au moins dans les quarante premières minutes. La résistance se trouve élevée dans les mêmes proportions. Quant à l'excitabilité, l'augmentation qu'elle subit dans le cas du milieu synthétique est peut-être moins forte que dans celui du bouillon de viande (maximum 27,5 % contre 42,5 %), cependant l'allure générale de la courbe est sensiblement la même (graphique 6).

Le fait que les différences remarquées pour les faibles teneurs de milieux de culture incorporés au liquide de Ringer s'effacent au fur et à mesure que l'on augmente les quantités de milieu, c'est-à-dire de la variable, nous a paru surprenant et nous a amené à étudier la question de plus près.

Nous avons pensé que les variations, attribuées aux milieux de culture mélangés au Ringer, provenaient en réalité des variations de pH subies par le nerf. En effet, la stabilisation du sciatique est effectuée en liquide de Ringer ajusté à pH 6,8 ; or, le pH du bouillon de viande employé est de 7,2 et celui du milieu synthétique, de 7,4. Le tableau ci-après donne le pH des mélanges expérimentés sur le nerf.

Bouillon de viande pH 7,2 5 % — liquide Ringer pH 6,8 95 % — mélange à pH 6,9.

Bouillon de viande pH 7,2 10 % - liquide Ringer pH 6,8 90 % — mélange à pH 6,9-7.

Bouillon de viande pH 7,2 50 % - liquide Ringer pH 6,8 50 % — mélange à pH 7,2.

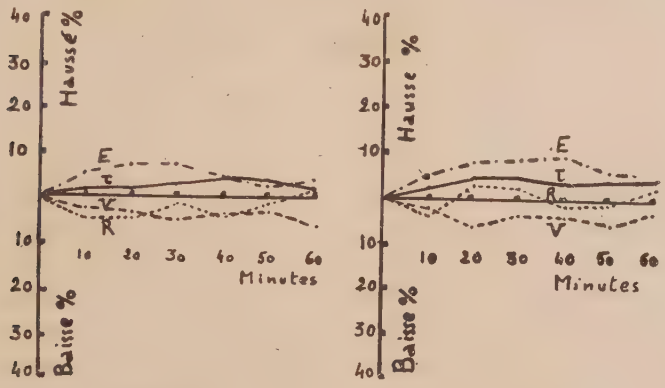
Milieu synthétique pH 7,4 5 % - liquide Ringer pH 6,8 95 % — mélange à pH 6,9.

Milieu synthétique pH 7,4 10 % - liquide Ringer pH 6,8 90 % — mélange à pH 6,9-7.

Milieu synthétique pH 7,4 50 % - liquide Ringer pH 6,8 50 % — mélange à pH 7,3.

C'est ainsi que les préparations baignées par ces différents mélanges accusaient des variations de pH autant que des variations dues aux milieux de cultures et attribuables beaucoup plus au pH qu'au milieu lorsqu'on augmentait le taux de ceux-ci.

Aussi, nous avons repris les essais, spécialement ceux concernant le milieu synthétique, en utilisant pour la stabilisation du nerf un liquide physiologique ajusté à pH 7,4.



GRAPHIQUE 7
5 % de bouillon synthétique
Bouillon synthétique.

GRAPHIQUE 8
10 % de bouillon synthétique
Stabilisation a pH 7.4

Les graphiques, obtenus après avoir pris cette précaution (graphiques 7 et 8) montrent que les variations sont alors beaucoup moins importantes ; de plus, elles sont identiques pour le taux de 5 % comme pour celui de 10 %, ce qui laisse entendre que l'action du milieu synthétique mélangé au liquide de Ringer est faible, comparativement aux causes ordinaires de variation de la rhéobase et de la chronaxie, telles que légers déplacements du nerf sur les électrodes ou variations de température en cours d'expérience. Quoiqu'il en soit, ces variations sont faibles et, aux taux de dilution auxquels nous employons la toxine — 1 à 5 % —, elles peuvent être considérées comme négligeables.

CHAPITRE III

ACTION DE LA TOXINE STAPHYLOCOCCIQUE SUR LE NERF MOTEUR

Pour nous placer dans les meilleures conditions d'étude de la toxine, nous avons suivi la technique d'expérimentation suivante : sur un nerf, nous essayons la toxine convenablement diluée ; sur l'autre, la même toxine, diluée au même taux, mais inactivée par chauffage. A ce sujet, il convient que nous donnions quelques précisions : au début de nos essais, nous inactivions la toxine par passage à l'autoclave à 115° pendant un quart d'heure ; nous avons ensuite reconnu et vérifié par titrages qu'un chauffage de quinze minutes au bain-marie à 100° suffisait pour détruire le principe toxique. Rappelons à ce sujet les travaux de H. Gross déjà cités (page 23) signalant la thermolabilité, dès 60°, du principe hémolytique, nécrosant, leucocidique et toxique, et vers 90°, de la staphylocoagulase.

Ce dernier procédé d'inactivation par chauffage à 100° au lieu de 115° présente l'avantage de ne pas provoquer de précipitation ou de trouble, à la condition toutefois que l'on chauffe la toxine seule et que l'on fasse la dilution avec le liquide de Ringer après refroidissement.

Chaque taux de dilution fait l'objet d'au moins quatre essais et pour compenser autant que possible les erreurs pouvant provenir des cuves ou des électrodes, nous disposons les nerfs et nous les traitons de la façon indiquée ci-dessous :

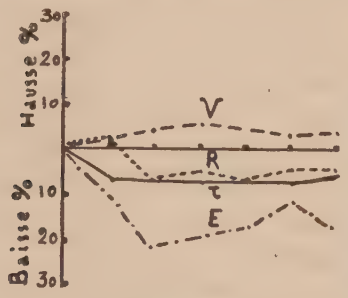
Cuve gauche	*Cuve droite*
Nerf gauche : recevant la toxine.	Nerf droit : recevant la toxine inactivée.
Nerf gauche : recevant la toxine inactivée.	Nerf droit : recevant la toxine.
Nerf droit : recevant la toxine.	Nerf gauche : recevant la toxine inactivée.
Nerf droit : recevant la toxine inactivée.	Nerf gauche : recevant la toxine.

La stabilisation est effectuée en liquide de Ringer ajusté à pH 7,2 de façon à ne pas enregistrer des variations de pH au lieu de variations dues à la toxine.

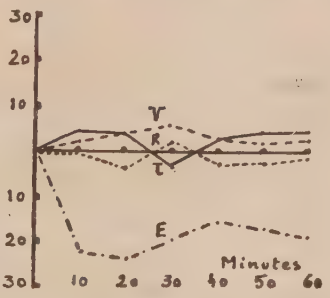
Dans l'exposé graphique de nos résultats, les courbes représentent les moyennes des variations enregistrées au cours des essais. De plus, nous donnons, dans le texte, quelques exemples d'expériences choisis parmi les plus typiques.

1° - ACTION SUR LE NERF MOTEUR DE LA TOXINE OBTENUE AVEC LA SOUCHE NÉLIS

Nous avons commencé les essais avec une dose volontairement basse, de façon à préciser la zone de début d'action



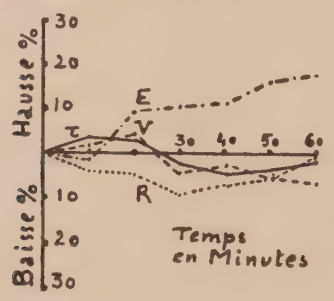
GRAPHIQUE 9 *a*
0,25 % Toxine Nélis chauffée



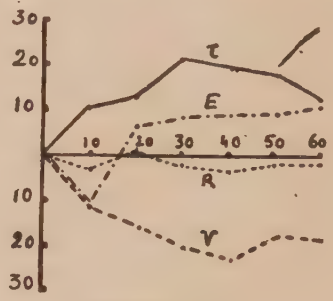
GRAPHIQUE 9 *b*
0,25 % Toxine Nélis active

de la toxine. Une teneur de 0,25 cc. pour cent produit bien des variations de rhéobase, de chronaxie et de résistance et même une chute appréciable de l'excitabilité, mais ces varia-

tions se produisent aussi bien avec le produit actif qu'avec la toxine chauffée, de sorte qu'on peut supposer qu'il s'agit uniquement de modifications dues à des produits résultant



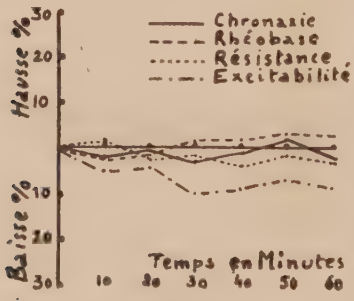
GRAPHIQUE 10 *a*
0,5 % Toxine Nélis chauffée



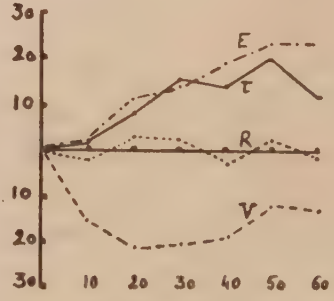
GRAPHIQUE 10 *b*
0,5 % Toxine Nélis active

du métabolisme du staphylocoque, qui n'ont rien à voir avec la toxine proprement dite (graphiques 9 a et b).

Avec une dose plus élevée (0,5 cc. %), nous constatons, sous l'influence de la dilution de toxine chauffée (graphique 10 *a*), une action faible, sans signification. Au contraire, la toxine active agit d'emblée, intensément. Dès la 10e minute, on note une augmentation appréciable de la chronaxie et une diminution de la rhéobase. La résistance ne varie pas beaucoup. L'excitabilité baisse pour aussitôt remonter au delà de sa valeur de stabilisation (graphique 10 b).



GRAPHIQUE 11 *a*
1 % Toxine Nélis chauffée

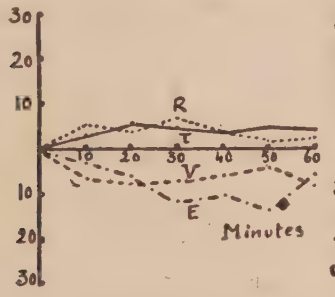


GRAPHIQUE 11 *b*
1 % Toxine Nélis active

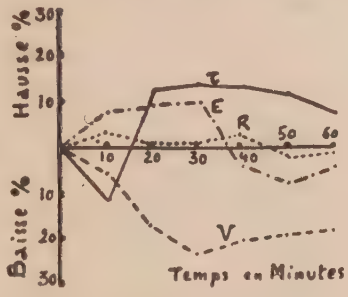
Avec 1 cc. de toxine, dilué par cent centimètres cubes de liquide de Ringer, on assiste au début d'un mouvement de la chronaxie qui ira désormais en s'accentuant ; cette

variable s'élève à peine à la 10e minute, elle ne s'accroît de façon appréciable qu'à la 20e. La rhéobase baisse et la résistance change peu, comme précédemment ; de ce fait, l'excitabilité accuse la variation de chronaxie ; la baisse constatée plus haut est remplacée par un plateau, la hausse survient seulement à la 20e minute (graphique 11).

Le taux de 2 cc. % peut être considéré comme le type de la série étudiée (graphiques 12). On observe en effet, avec la toxine active, pour la chronaxie, une chute caractéristique assez importante puisqu'elle atteint d'emblée 10 %, puis,



Graphique 12 *a*
2 % Toxine Nélis chauffée



Graphique 12 *b*
2 % Toxine Nélis active

dès la 20e minute, une remontée notable (13 % au-dessus de la valeur de stabilisation) atteignant son maximum presqu'aussitôt, enfin une chute lente ; pour la rhéobase, une chute comme dans les doses déjà vues ; pour la résistance, peu de modification ; quant à l'excitabilité, la hausse immédiate dure jusqu'à la 30e minute pour faire place, à ce moment, à une chute importante et régulière. Avec la toxine inactive, on n'observe que les faibles variations déjà signalées (graphique 12 a).

Les essais-type ci-dessous, se rapportant à cette dose, illustrent bien ce que nous venons d'exposer. Tandis que la toxine chauffée ne produit pas de grosses variations des paramètres étudiés, la toxine active fait baisser la chronaxie de façon nette mais transitoire, la fait ensuite remonter suivant une courbe en tous points parallèle à celle obtenue en faisant les moyennes des essais, abaisse la rhéobase qui se

relève ensuite lentement, modifie peu la résistance, et finalement, on constate que l'excitabilité, s'élevant progressivement jusqu'à un maximum, retombe brusquement.

Rappelons que dans le compte rendu des essais, H représente l'heure à laquelle ont été effectuées les mesures, V exprime le voltage rhéobasique en volts, i l'intensité passant par le nerf calculé en fonction de sa résistance et du voltage appliqué aux bornes de sortie du potentiomètre [QUEVAUVILLER (80)], τ la chronaxie en σ ou millième de seconde, R la résistance en milliers d'ohms et E l'excitabilité calculée selon la formule donnée par QUEVAUVILLER (80).

Toxine chauffée - 2 cc. %

H	V	i	τ	R	E
15,40	0,33	1,13	0,52	60	6,5
15,50	0,32	1,07	0,49	62	7,3
15,55		Toxine chauffée 2 cc. %			
16,05	0,30	1,01	0,53	62	7,4
16,15	0,28	1,02	0,56	57	7,6
25	0,28	0,97	0,56	60	7,4
35	0,28	0,97	0,56	60	7,4
45	0,26	1,05	0,56	50	8,8
55	0,28	1,10	0,53	52	6,25

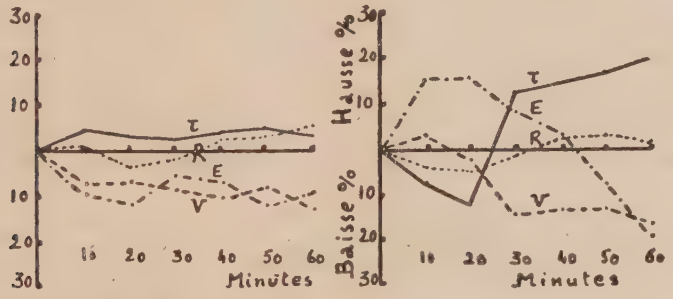
2e essai, 2 cc. - 3 mai 43. — ♀ + 43 gr. - T = 18° C.

Toxine non chauffée - 2 cc. %

H	V	i	τ	R	E
15,45	0,28	0,97	0,52	60	6,3
15,55	0,30	1,2	0,50	59	7,5
16,00		Toxine 2 cc. %			
16,10	0,30	1,04	0,48	60	8
20	0,26	1,01	0,56	55	8,6
30	0,24	0,93	0,57	55	10
40	0,25	0,90	0,52	60	10,7
50	0,27	1,00	0,54	55	8,2
17,00	0,27	1,03	0,53	53	8,3

3e essai, 2 cc. - 5 mai 43. — ♀ + 23 gr. - T = 19° C.

Nous avons terminé les essais par l'étude du mélange toxine 5 cc.-liquide de Ringer 95 cc. Les variations s'effectuent dans le même sens, sauf en ce qui concerne la rhéobase qui subit d'abord une légère hausse ; la baisse attendue n'apparaît qu'à la 20e minute. La chronaxie est diminuée jusqu'à une valeur identique à celle atteinte avec 2 cc. de toxine, cependant que le maximum de baisse est reculé dans le temps et ne se produit qu'après 20 minutes d'action. L'excitabilité augmente, puis baisse vers la 40e minute ; l'allure de la courbe est la même que dans l'essai de la dose inférieure de toxine, mais la variation est plus forte (graphiques 13).



Graphique 13 *a*
5 % Toxine Nélis chauffée

Graphique 13 *b*
5 % Toxine Nélis active

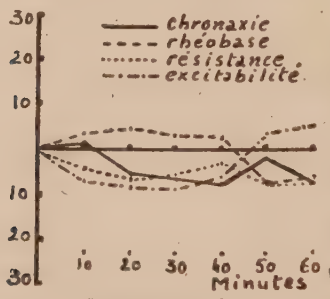
Cette toxine staphylococcique — souche Nélis — agit donc de la façon suivante : pour une teneur en toxine suffisante, on constate une diminution, puis une élévation de chronaxie, un abaissement de la rhéobase, une action insignifiante sur la résistance. L'excitabilité augmente puis diminue. Comparativement, la toxine inactivée ne modifie pas la chronaxie ou l'élève légèrement et, dans ce cas, d'une valeur qui reste constante au cours de l'expérience ; la rhéobase est peu touchée, parfois abaissée dans de faibles proportions ; la résistance baisse pour les faibles teneurs et est peu modifiée par les doses plus élevées (1 cc. et au delà).

2° - ACTION SUR LE NERF MOTEUR DE LA TOXINE STAPHYLOCOCCIQUE OBTENUE SUR MILIEU SYNTHETIQUE A PARTIR D'UNE SOUCHE WOOD.

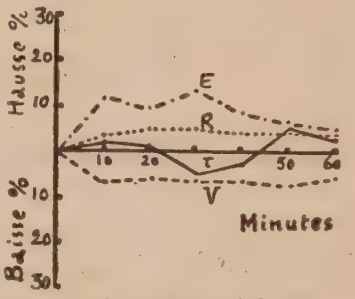
Cette toxine, titrant 15 unités au lieu de 11 pour celle dont nous venons d'exposer l'action sur le nerf, il fallait s'attendre à la voir agir à des taux plus faibles. En fait, il n'en a rien été, son action a seulement été plus marquée, c'est pourquoi nous nous en sommes tenus aux mêmes dilutions que pour l'étude de la toxine souche Nélis.

Le taux de 0,25 cc. de toxine pour 100 cc. de Ringer ne nous ayant rien apporté d'intéressant, nous ne relaterons pas ces essais. C'est à partir de l'emploi d'un Ringer contenant 0,50 cc. de toxine pour cent que le nerf accuse la présence du poison staphylococcique.

Nous notons alors, pour la toxine active, une baisse légère et tardive de la chronaxie suivie de la remontée attendue, une chute de la rhéobase et une augmentation de la résistance.



GRAPHIQUE 14 *a*
Toxine Wood chauffée
05,%



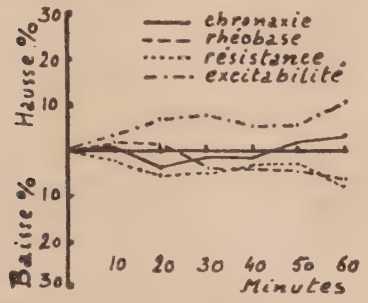
GRAPHIQUE 14 *b*
Toxine Wood active
0,5 %

L'excitabilité augmente. Dans le cas de la toxine inactivée, les variations sont peu importantes : l'excitabilité baisse cependant un peu pour remonter, vers la fin de l'essai, au-dessus de sa valeur de stabilisation (graphiques 14 a et 14 b).

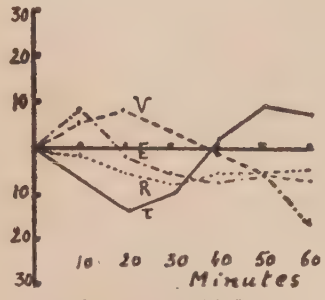
Le mélange toxine 1 cc. — RINGER 99 cc. produit une baisse de chronaxie suivie entre la trentième et la quarantième minute d'une hausse équivalente, une augmentation, puis une chute de la rhéobase et une diminution de la résistance. L'excitabilité monte puis redescend aussitôt. La toxine inactivée

produit des variations faibles qui se traduisent pourtant par une hausse de l'excitabilité (graphiques 15).

Comme dans le cas de la toxine souche Nélis, c'est le mélange toxine 2 cc. — Ringer 98 cc. qui nous fournit les



GRAPHIQUE 15 *a*
Toxine Wood chauffée 1 %



GRAPHIQUE 15 *b*
Toxine Wood active 1 %

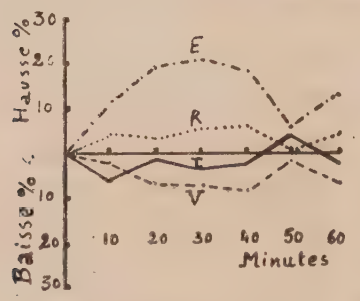
variations caractéristiques. L'essai-type ci-après nous montre en effet une hausse de V suivie rapidement d'une baisse qui se stabilise en un plateau, une baisse de *t* se transformant entre la vingtième et la trentième minute en une remontée, une résistance peu modifiée, une excitabilité qui monte d'abord, puis baisse suivant un mode inverse de celui de la chronaxie. Les variations relatives à la toxine chauffée sont faibles et uniformes ; notons cependant une augmentation de l'excitabilité.

Toxine souche Wood. — 2 cc. pour 100

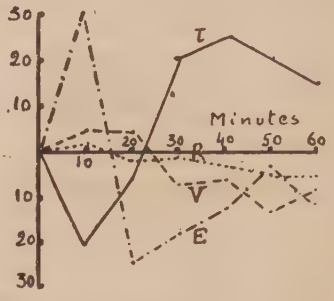
H	V	*i*	τ	R	E
10,45	0,33	—	0,33	38	—
10,55	0,37	1,7	0,34	40	5,8
11,00	Toxine 2 cc. pour 100				
11,10	0,42	1,9	0,30	42	6,4
20	0,37	1,6	0,32	42	7,3
30	0,32	1,5	0,36	39	6,9
40	0,32	1,6	0,37	37	8,1
50	0,29	1,4	0,39	38	8,1
12,00	0,30	1,5	0,37	37	7,8

4ᵉ essai 2 cc. - 6 VII 43 ♀ 36 cc. T : 19° C.

Les graphiques 16 traduisent d'une manière plus claire les modifications moyennes portant sur plusieurs essais ; on observe une chute brève (et importante) de chronaxie, suivie



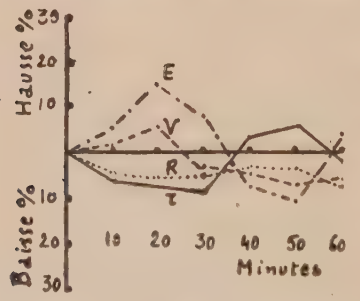
GRAPHIQUE 16 *a*
Toxine Wood chauffée 2 %



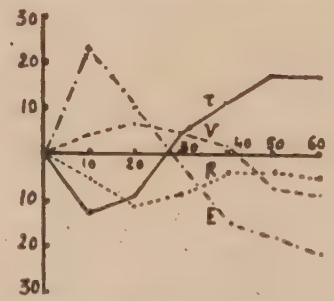
GRAPHIQUE 16 *b*
Toxine Wood active 2 %

d'une élévation rapide et non moins importante, puis une retombée légère en fin d'expérience. La rhéobase subit une variation inverse, mais beaucoup moins prononcée. La résistance varie peu et présente simplement une légère baisse. L'excitabilité suit un mouvement inverse de celui de la chronaxie mais beaucoup plus brutal, puisque d'un maximum de hausse de près de 40 % à la dixième minute, elle passe à un maximum de baisse de 25 % dès la vingtième minute. La toxine chauffée agit peu mais laisse déjà présager les modifications plus marquées que l'on constatera pour le taux de toxine supérieur.

Avec 5 % de toxine, nous assistons aux mêmes variations que nous venons de voir, avec cette différence qu'elles sont



GRAPHIQUE 17 *a*
Toxine Wood chauffée 5 %



GRAPHIQUE 17 *b*
Toxine Wood active 5 %

atténuées. La rhéobase met plus de temps à baisser ; l'excitabilité diminue également moins vite (graphique 17).

La toxine chauffée provoque des variations analogues à celles de la toxine active, mais bien moins importantes ; peut-être le temps de chauffage à 100° n'est-il pas suffisant pour ces fortes doses. Cette similitude d'allure des courbes tendrait à prouver que les modifications notées pour la toxine active sont bien dues à celle-ci, puisqu'il suffit de ne pas la chauffer suffisamment pour la voir produire ses effets sur le nerf, atténués bien entendu.

De l'ensemble des essais réalisés sur le nerf moteur, nous pouvons conclure que, pour des doses suffisamment élevées, la toxine staphylococcique agit dans le sens suivant :

1° La chronaxie baisse, puis remonte et se stabilise, ou redescend lentement.

2° La rhéobase s'élève, puis retombe en dessous de sa valeur de stabilisation.

3° La résistance baisse quand la toxine est issue d'une souche Wood et est peu modifiée quand elle provient d'une souche Nélis.

4° Enfin, l'excitabilité est augmentée dans un premier temps et abaissée ensuite, cette chute correspondant avec la remontée de chronaxie.

CHAPITRE IV

ACTION DE QUELQUES FERMENTS SUR LE NERF MOTEUR

A notre connaissance, l'étude chronaximétrique de l'action des ferments n'a pas encore été entreprise. Seules ont fait l'objet d'investigations de cet ordre quelques substances protidiques plus ou moins complexes, possédant ou non une action lytique et d'ailleurs d'origine très différente.

Les peptones, résultant de l'action sur la fibre musculaire de la pepsine ou de la trypsine, ont été essayées sur le pied d'escargot par Cahen et Bosc (9). Ces auteurs ont constaté un abaissement de la chronaxie et de la rhéobase tout à fait spécifique et qui ne saurait être rapporté à la présence de l'histamine.

Plus tard, l'insuline a été étudiée d'abord par Cahen (10) sur le pied d'escargot, ensuite par H. Reiners (99) qui a envisagé l'influence de ce polypeptide sur le nerf moteur du lapin et a reconnu que la chronaxie était tout d'abord raccourcie, puis allongée et que la rhéobase, d'abord inchangée, subissait un abaissement.

Par ailleurs, les venins, dans la constitution de certains desquels entrent des protéines à action diastasiques, peuvent également être étudiés de ce point de vue.

Bien que Franzi (20) tende à rapprocher le principe lytique davantage des catalyseurs inorganiques que des ferments, il n'en reste pas moins que le venin de cobra par exemple

[Ganguly (21)] attaque la gélatine et l'ovalbumine comme la pepsine et la papaïne et attaque la lécithine.

L'étude de leur action neurotrope a été plus poussée que celle des peptones et de l'insuline. C'est ainsi que D.-J. Macht (53) a constaté que l'injection de venin de cobra produit une diminution marquée de la sensibilité à la douleur. C.-H. Kellaway (40) a mis en évidence deux actions périphériques relevant de l'intoxication venimeuse : une anesthésie de la sensibilité tactile et une diminution de l'excitabilité musculaire. V.-H. Cicardo (13) a montré que le venin de cobra augmente la rhéobase et la chronaxie du nerf moteur avant l'apparition du phénomène de curarisation ; la chronaxie musculaire s'élève parfois, mais très légèrement ; quant à l'excitabilité réflexe, son altération est plus rapide que celle de l'excitabilité motrice. Enfin, J. Gautrelet et W. Halpern (23), injectant du venin de cobra dans les sacs lymphatiques de la grenouille, voient la chronaxie du nerf augmenter alors que celle du muscle est peu touchée.

Les mêmes auteurs, avec E. Corteggiani (24), ont montré que la peptone et le venin de cobra, comme l'a reconnu Arthus, semblent agir par un mécanisme analogue. Chez la grenouille, le venin de cobra injecté par voie lymphatique ou veineuse produit une curarisation comme le montre l'étude des variations des paramètres musculaires.

Pour compléter ces recherches et pour les raisons signalées dans l'introduction, il nous a paru intéressant d'observer les réactions d'un sciatique immergé dans des solutions en liquide de Ringer de quantités variables de pepsine, de trypsine ou de papaïne.

Tout en conservant le principe de la technique utilisée pour l'étude de la toxine, il a été possible d'en simplifier l'application.

Tout d'abord, nous n'avions plus besoin de terme de comparaison, la substance dissoute dans le liquide physiologique étant pure et de nature bien déterminée ; il n'était donc plus nécessaire d'opérer en présence de témoin. En second lieu, la question de *p*H ne jouait plus, étant donné que les ferments

ne modifient pas le *p*H du liquide de Ringer. C'est pourquoi nous avons pu, d'une part utiliser à nouveau le Ringer ajusté à *p*H 6,8 avec lequel nous faisions nos stabilisations avant les essais sur la toxine, et d'autre part étudier, au cours du même essai, deux doses de ferment ; par exemple, lors des essais de la pepsine, nous avons expérimenté les doses de 5 et 10 ctgr. pour 100 cc. de Ringer simultanément, de la façon suivante.

Cuve gauche

Nerf gauche	traité par	0,05 gr. %	de pepsine
—	—	0,10 gr. %	—
Nerf droit	—	0,05 gr. %	—
—	—	0,10 gr. %	—

Cuve droite

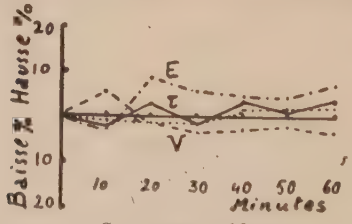
Nerf droit	—	0,10 gr. %	—
—	—	0,05 gr. %	—
Nerf gauche	—	0,10 gr. %	—
—	—	0,05 gr. %	—

Signalons de plus que la régularité de certaines courbes n'a pu être obtenue qu'en multipliant les essais. Ainsi, la dose de 0,5 gr., pour 100 cc. de Ringer, qui nous a paru fournir le type des essais sur la pepsine, a fait l'objet de 7 expériences et a été étudiée parallèlement aux doses de 0,25 et 1 gr.

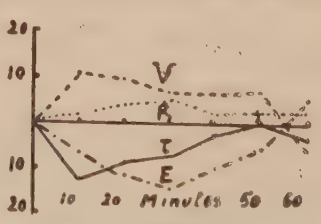
1° - ACTION DE LA PEPSINE.

Nous avons employé une pepsine en paillettes de titre 100 Codex, de préparation récente.

La pepsine n'agit pratiquement pas en solutions contenant moins de 5 ctgr. pour cent (graphique 18). Ce taux peut être

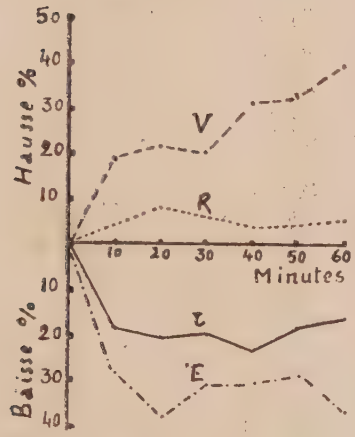


GRAPHIQUE 18
0 gr. 015 % de Pepsine

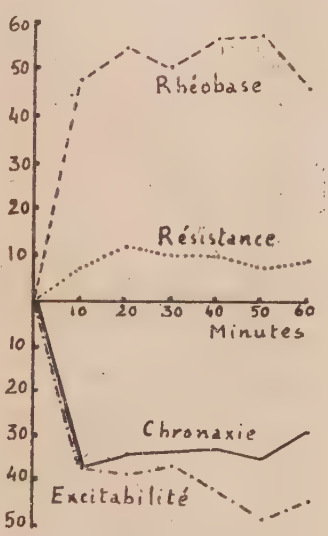


GRAPHIQUE 19
0 gr. 05 % de pepsine

considéré comme la dose-seuil de l'action du ferment. En effet, on observe, seulement alors, une chute de chronaxie appréciable (12 %) et de durée suffisante (30 minutes) ; la rhéobase augmente et se stabilise pendant toute la durée de l'essai aux



Graphique 20
0 gr. 10 % de pepsine

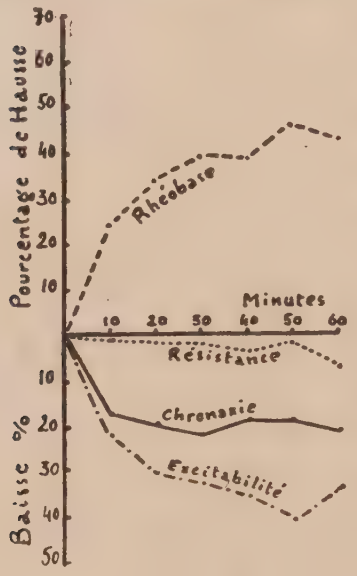


Graphique 21
0 gr. 25 % de pepsine

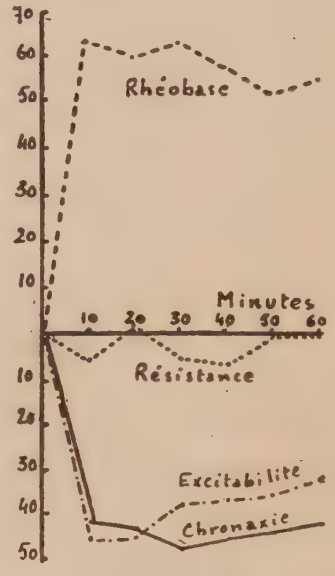
environs de 7 à 8 % ; la résistance subit une élévation transitoire, en dehors de laquelle elle se maintient rigoureusement à sa valeur de stabilisation. Enfin, l'excitabilité baisse régulièrement, dans la première partie de l'essai, puis remonte dans la deuxième moitié.

Les mêmes variations se retrouvent plus accusées dans les expériences portant sur les doses plus élevées de ferment. Nous avons étudié successivement des solutions de pepsine à 0,10, 0,25, 0,50 et 1 gramme pour 100 cc. de liquide de Ringer. Pour toutes ces teneurs, on observe, en comparant les courbes et par l'examen des essais-type qui suivent, des modifications identiques de l'excitabilité, à savoir : chute de chronaxie-hausse de rhéobase, élévation de la résistance pour 0,10 et

0,25 gr. %, mais pas de changement pour 0,50 gr. % et 1 gr. % ; enfin, chute de l'excitabilité proportionnelle au taux de ferment mis en solution (graphiques 20 à 23).



GRAPHIQUE 22
0 gr. 5 % de pepsine



GRAPHIQUE 23
1 gr. % de pepsine

Pepsine 0,10 *gr. pour* 100

H	V	*i*	τ	R	E
15,35	0,44		0,34	65	
15,45	0,42		0,37	58	
15,55	0,44	1,77	0,38	50	4,2
16,00	Pepsine 0,10 gr. pour 100 cc. de Ringer				
16,10	0,51	2,05	0,32	50	3,7
20	0,56	2,18	0,30	52	3,4
30	0,57	2,18	0,30	53	3,3
40	0,63	2,41	0,31	53	2,6
50	0,64	2,53	0,30	53	2,4
60	0,63	2,41	0,31	52	2,6

♂ 20 gr. T : 16° C. 11 XI 43.

Pepsine 0,25 gr. pour 100

H	V	*i*	τ	R	E
10,45	0,35		0,46	50	5,45
10,55	0,34		0,47	50	5,7
11,00	Pepsine 0,25 gr. pour 100				
11,10	0,50		0,38	52	3,8
20	0,52		0,38	55	3,2
30	0,54		0,36	55	3,0
40	0,54		0,37	52	2,9
50	0,55		0,37	50	2,9
12,00	0,54		0,37	55	3,2

♀ + 35 gr. T : 17° C. — 11 XI 43.

2° - ACTION DE LA TRYPSINE.

Nous avons utilisé une trypsine en poudre, de préparation assez ancienne, mais digérant 50 fois son poids de fibrine au moins, titre correspondant à un ferment actif.

Nous avons effectué avec ce ferment les mêmes essais qu'avec le précédent, c'est-à-dire que nous avons traité les nerfs par des solutions à 0,05, 0,10, 0,25, 0,50 et 1 gr. pour 100 cc. de liquide de Ringer. La solution à 0,05 n'ayant pas fourni de résultat caractéristique, nous n'en reproduisons pas le graphique.

Les données obtenues avec les solutions de titre supérieur sont homogènes et les variations sont partout semblables ; seules varient les valeurs absolues de ces variations, et elles sont d'ailleurs proportionnelles aux doses de trypsine agissantes.

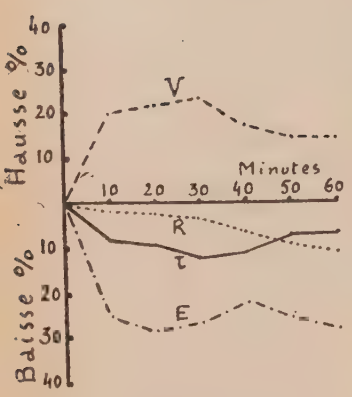
Comme plus haut, un examen comparatif des graphiques (24 à 27) et de l'essai-type ci-dessous permet de constater :

1° une baisse de chronaxie ;

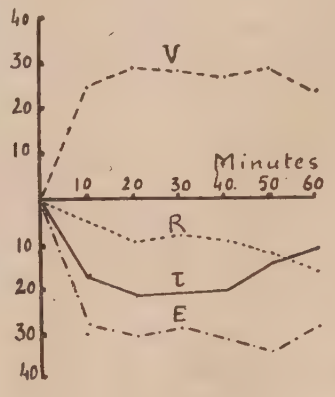
2° une hausse de rhéobase ;

3° une chute de la résistance qui atteint des valeurs importantes au fur et à mesure de l'augmentation de la dose du ferment ;

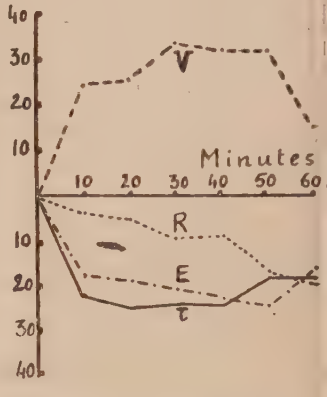
4° une chute de l'excitabilité.



Graphique 24
0 gr. 10 % de trypsine



Graphique 25
0 gr. 25 % de trypsine



Graphique 26
0 gr. 50 % de trypsine

Trypsine 0,25 *gr. pour* 100

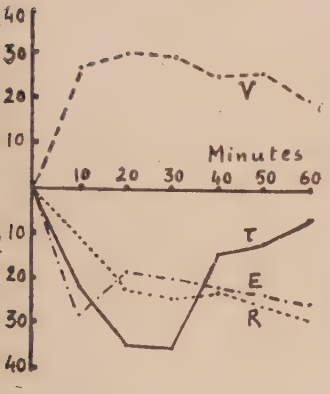
H	V	*i*	τ	R	E
10,40	0,48	1,28	0,48	85	4,0
10,50	0,50	1,29	0,47	85	3,8
10,55	Trypsine 0,25 gr. pour 100 cc. de Ringer				
11,05	0,62	1,73	0,37	80	3,0
11,15	0,64	1,95	0,37	70	2,6
25	0,68	2,06	0,33	70	2,5
35	0,70	2,13	0,38	70	2,1
45	0,74	2,25	0,38	70	1,9
55	0,70	2,13	0,33	70	2,4

♀ 23 gr. T : 15°5. — 17 XI 43.

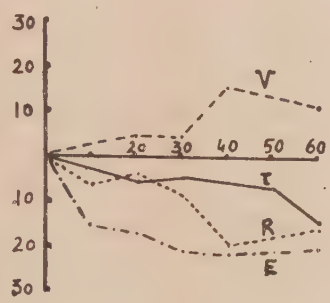
Ces variations sont analogues à celles observées au cours de l'étude de la pepsine, sauf toutefois en ce qui concerne la résistance qui augmente dans le cas de la pepsine alors qu'elle baisse dans celui de la trypsine.

3° - ACTION DE LA PAPAINE.

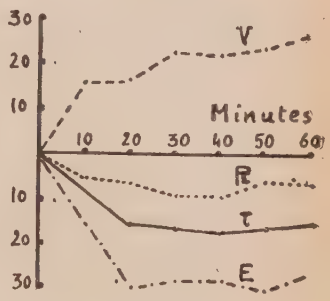
Le ferment utilisé pour les essais qui suivent est une papaïne en poudre dissolvant au moins cent parties de fibrine desséchée.



GRAPHIQUE 27
1 gr. % de trypsine



GRAPHIQUE 28
0 gr. 05 % de papaïne



GRAPHIQUE 29
0 gr. 10 % de papaïne

Les essais ont porté sur les mêmes doses que précédemment. Les courbes tracées pour les différentes teneurs en ferment étant semblables, compte non tenu des valeurs absolues, nous avons jugé inutile de les reproduire toutes : aussi, nous en sommes nous tenu à l'exposé de trois doses caractéristiques : 0,05, 0,10 et 0,50 gr. pour 100 cc. de Ringer.

Les trois graphiques (28, 29 et 30) correspondants à ces taux indiquent des variations semblables à celles provoquées par les deux ferments précédemment étudiés, à savoir :

chute de chronaxie,
hausse de rhéobase,
chute importante de la résistance,
chute de l'excitabilité.

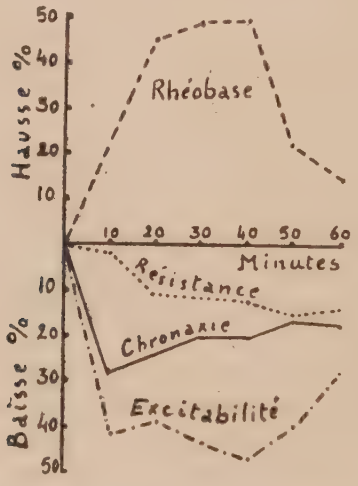
L'essai-type suivant illustre le graphique 30.

Papaïne 0,5 gr. pour cent.

H	V	*i*	τ	R	E
—	—	—	—	—	—
14,50	0,44	1,74	0,39	51	
15,00	0,52	1,98	0,41	53	3,0
05	0,5 gr. de Papaïne pour cent de Ringer.				
15	0,63	2,45	0,30	52	2,15
25	0,76	3,20	0,31	48	1,6
35	0,78	3,20	0,35	47	1,5
45	0,78	3,20	0,33	47	1,6
55	0,75	3,29	0,30	45	1,6
16,05	0,74	3,24	0,30	45	1,7

♀ 37 gr. T : 15° C. — 5 II 44.

Ainsi, les trois ferments étudiés agissent de façon identique, sauf en ce qui concerne la résistance ; les modifications de cette variable se résument comme suit :



GRAPHIQUE 30
0 gr. 5 % de papaïne

Pepsine : hausse, sauf quelques doses où aucune variation ne se manifeste.

Trypsine : baisse, d'autant plus importante que la solution contient plus de ferment.

Papaïne : baisse très importante même avec les solutions à faible teneur en ferment.

DEUXIÈME PARTIE

Action de la toxine staphylococcique et des ferments sur le nerf sensitif

CHAPITRE I

THÉORIE DU NERF SENSITIF ITÉRATIF

La méthode chronaximétrique garde toute sa valeur lorsqu'on l'applique au nerf sensitif itératif, mais l'appareillage nécessaire diffère dans ce cas, du fait que cette fibre sensitive demande, pour être stimulée, non plus un seul passage de courant, mais plusieurs excitations successives.

L. LAPICQUE entend par systèmes ou appareils itératifs certains systèmes ou appareils physiologiques qui, excités indirectement, sont « peu ou point sensibles à un stimulus isolé, quelle que soit la durée de celui-ci, et réagissent dans une large mesure à la réitération plus ou moins rapide, plus ou moins prolongée de ce stimulus long ou bref ».

C'est le cas des fibres sensitives du sciatique de RANA, dont l'excitation réitérée déclanche le réflexe croisé. On sait que la nécessité d'une sommation des excitations pour l'obtention de ce réflexe médullaire chez la grenouille spinale, avait été

reconnue à l'aide des ondes induites fournies par le secondaire d'une bobine d'induction quand, à l'aide d'un trembleur, on coupe le courant dans le primaire un grand nombre de fois par seconde.

L'analyse chronologique de l'excitabilité réflexe nécessite un appareillage qui a été imaginé par L. Lapicque. Le circuit utilisé est le circuit habituel de mesure de la chronaxie par décharges de condensateurs, où la clef à double contact qui permet successivement la charge des condensateurs par les accumulateurs et sa décharge sur la préparation est remplacée par un appareil, l'itérateur, qui exécute cette opération un certain nombre de fois par seconde à un rythme déterminé. Dès lors, on conçoit trois variables susceptibles d'agir sur l'intensité liminaire : la durée de chaque stimulus, la fréquence ou rythme des stimuli, le nombre des stimuli.

La durée de chaque stimulus est fonction de la capacité du ou des condensateurs.

La fréquence et le nombre sont fixés à des valeurs convenables et dépendent du réglage de l'itérateur effectué une fois pour toutes. Ainsi, l'intensité liminaire varie en fonction de la capacité, c'est-à-dire de la durée des stimuli, suivant une relation de même forme que pour le nerf moteur.

On peut donc en tirer une chronaxie qui est la chronaxie du nerf sensitif centripète, laquelle caractérise l'état d'excitation du nerf. Si, d'autre part, on opère avec une capacité et un nombre d'excitation constants, l'intensité liminaire diminue quand la fréquence augmente ; c'est la loi des intervalles. Enfin, avec une capacité fixe et une fréquence déterminée, l'intensité liminaire diminue quand le nombre croît ; c'est la loi des nombres.

Ces lois d'excitation caractérisent l'état d'excitation de la moelle.

J. Regnier (96-97) comparant l'activité de divers anesthésiques locaux sur le nerf itératif, a proposé, à juste titre, de suivre les variations de la chronaxie du nerf centripète pour un nombre de stimulations et une fréquence déterminés : 24 stimulations au rythme de 12 par seconde.

Comme pour le nerf moteur, il a constaté un maximum de baisse de chronaxie sous l'influence de ces substances d'autant plus prononcé que la dose employée est plus forte. Les courbes concentration-action, établies par ce procédé, ont permis à cet auteur de comparer l'activité des anesthésiques étudiés.

Mais cette méthode n'était pas à l'abri de la critique que J. SIVADJIAN avait formulée sur le nerf moteur, à savoir que J. REGNIER avait en réalité mesuré une hyperexcitabilité prénarcotique et non pas une diminution d'excitabilité. A. QUEVAUVILLER a ainsi été amené à s'assurer que la baisse de chronaxie du nerf sensitif itératif correspond bien, comme dans le cas du nerf moteur, à une baisse d'excitabilité. Il a déterminé l'énergie électrique dépensée lors de la mesure de la chronaxie sensitive, dans la partie, mise à nu entre les électrodes, du sciatique d'une patte de grenouille rendue spinale.

Le circuit de décharge comporte, selon le schéma et comme pour le nerf moteur, outre la préparation, deux résistances en série de 7.000 et de 10.000 ohms, shuntées par une autre résistance de 3.000 ohms.

De la sorte, les condensateurs se déchargent dans un circuit de résistance constante, la préparation étant négligeable par rapport au shunt. Le temps de passage du courant dans le nerf est ainsi fonction de la capacité. L'énergie électrique utilisée entre les électrodes peut être calculée connaissant le voltage V de charge des condensateurs, la capacité C de ceux-ci, et la résistance R de la portion de nerf recevant la décharge galvanique.

A. QUEVAUVILLER a exposé tout au long ce calcul et (82) est arrivé à l'expression suivante de l'énergie pour une seule décharge de condensateurs :

$$\frac{CV^2}{2} \quad \frac{9\,R}{(13 + R)\,(121 + 10\,R)}$$

La fréquence étant 12 par seconde, il a fixé à 3 le nombre des décharges. L'énergie dépensée dans ces conditions est

donc égale à : $\frac{CV^2}{2} \quad \frac{27\ R}{(13 + R)\ (121 + 10\ R)}$

Si l'on pose V égal au voltage rhéobasique, au moment de la mesure de la chronaxie, le voltage est égal à 2 V et l'énergie dépensée est alors :

$$e = 2\ C\ V^2\ \frac{27\ R}{(13 + R)\ (121 + 10\ R)}$$

L'expression d'excitabilité E, étant l'inverse de cette énergie, est donnée par :

$$E = \frac{1}{2\ C\ V^2} \cdot \frac{(13 + R)\ (121 + 10\ R)}{27\ R}$$

La valeur trouvée pour e s'exprime en centièmes d'erg, si :
V = voltage rhéobasique en volts,
C = capacité chronaxique en millièmes de microfarad,
R = résistance de la préparation en milliers d'ohms.

On mesure cette dernière par substitution, en lançant sous voltage rhéobasique, à l'aide du chronaximètre, une onde rectangulaire de 1/10e de seconde dans la préparation ; on note l'élongation maxima du spot d'un galvanomètre balistique placé dans le circuit et on substitue immédiatement à la préparation, par le jeu d'un inverseur, une boîte de résistances étalonnées. On cherche, sous le même voltage, quelle est la résistance pour laquelle l'élongation du spot est la même. Cette résistance équivaut à celle de la préparation et si elle n'est pas absolument égale à celle présentée vis-à-vis d'une onde brève, par effet Fleischl, comme c'est le cas au moment de la mesure de la chronaxie, on peut admettre que ses variations sont relativement du même ordre et de même sens.

On peut, au lieu d'utiliser le chronaximètre, employer un condensateur de capacité suffisante (10 microfarads) que l'on décharge successivement dans la préparation, puis dans la résistance ; en le chargeant chaque fois sous le même voltage. La résistance obtenue avec l'onde de décharge du condensateur est pratiquement identique à celle que donne l'onde rectangulaire du chronaximètre.

Lors de nos essais, nous avons employé la méthode de mesure de R par la décharge rectangulaire du chronaximètre, le montage des instruments permettant le passage facile du circuit condensateur-itérateur au circuit chronaximètre.

DESCRIPTION DES APPAREILS.

La source S est constituée par trois accumulateurs de 4 volts montés en série. Le travail de ces accumulateurs étant faible et surtout régulier, leur entretien est minime et n'exige pas de précaution spéciale.

Un interrupteur et une clef de Morse ouvrent le circuit pendant la non-utilisation des instruments.

Le potentiomètre, construit par A.-M. Monnier et H. Bazin, permet de graduer le voltage de la source en millièmes de volt. Il comporte de plus un système de « doublage » permettant de doubler le voltage du circuit sortant, quelle que soit sa valeur initiale, pour autant toutefois que celle-ci ne dépasse pas la moitié du voltage de la source. Il est bon de vérifier et de régler éventuellement ce système de doublage assez fréquemment au moyen des deux rhéostats disposés à cet effet.

Un voltmètre permet de surveiller le potentiel employé. Il comporte deux échelles : 0 à 20 volts par dixièmes de volt et 0 à 2 volts par centièmes de volt. Un commutateur permet l'utilisation de l'une ou l'autre échelle.

Les condensateurs sont rassemblés dans une boîte et mis en circuit par le simple jeu de trois boutons, graduant les 10 microfarads, qui constituent la capacité de l'ensemble, en millièmes de microfarad.

L'itérateur est constitué par un distributeur de moteur à six cylindres, c'est-à-dire qu'il comporte 6 plots, dont 3 servent à la charge des condensateurs par les accumulateurs et 3 à la décharge des capacités dans la préparation. Le charbon distributeur tourne à la vitesse de quatre tours par seconde, soit au rythme de douze charges et décharges à la seconde.

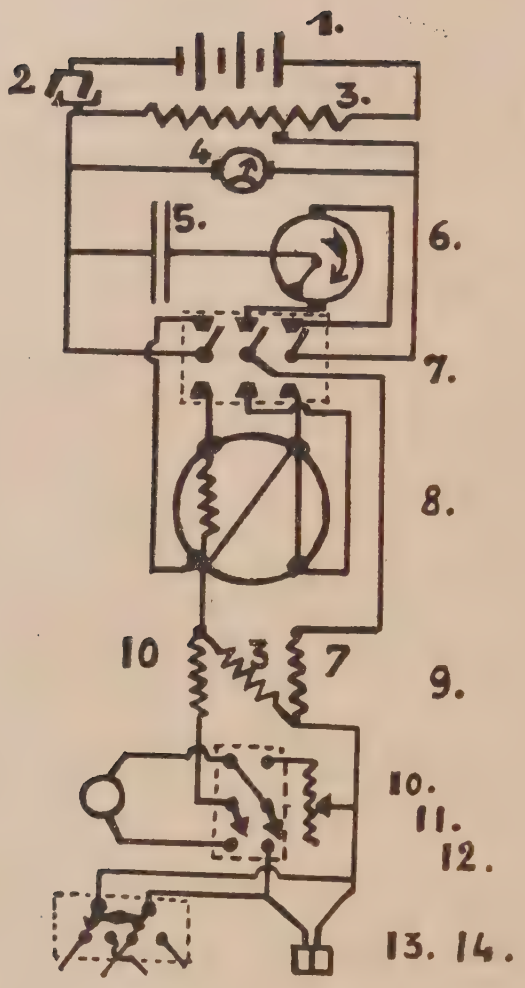


FIG. 1. — *Schèma de l'appareillage pour la mesure de l'excitabilité motrice ou sensitive.*

1. Batterie d'accumulateurs.
2. Chef de morse et commutateur.
3. Potentiomètre.
4. Voltmètre.
5. Boîte de condensateurs.
6. Itérateur.
7. Inverseur triple (n° 1).
8. Chronaximètre de Lapicque.
9. Shunt - 10.000, 3.000 et 7.000 ohms.
10. Galvanomètre.
11. Inverseur bipolaire (n° 2).
12. Boîte de résistances.
13. Inverseur n° 3 du banc d'excitation sensitive.
14. Cuves à excitation pour nerf moteur.

Le disque à secteur (fig. 2), calé sur l'arbre de sortie du moteur (fig. 3) et tournant au 1/8e de la vitesse du distributeur, permet de ne faire passer que trois stimuli, à chaque interrogation, lorsque le balai de sortie est repoussé, comme l'indique la figure 1 sur le plus grand cercle du disque, c'est-à-dire lorsqu'il utilise le plus petit secteur, représentant 1/2 cercle.

Le moteur est un moteur synchrone bipolaire de puissance réduite, voisine de 1/30e de cheval. La réduction de vitesse s'effectue par vis sans fin et l'arbre de sortie tourne à 40 tours par minute. Signalons enfin qu'un condensateur de 0.001 microfarad est shunté sur le moteur pour absorber les courants parasites tels que surtout les extra-courants de rupture à l'arrêt du moteur.

L'itérateur est l'appareil le plus délicat — le galvanomètre balistique mis à part — et nécessite des nettoyages sérieux et fréquents. Il faut vérifier la propreté du disque réglant le rythme, les contacts du balai d'entrée et du balai de sortie de ce même disque, mais il faut surtout nettoyer le distributeur, son charbon rotatif et le chemin de frottement qui s'encrasse très vite par dépôt de poussière de charbon. En pratique, dès que, sans avoir fermé le circuit du potentiomètre et l'itérateur fonctionnant, la grenouille accuse le passage d'ondes galvaniques, on doit essuyer le distributeur et vérifier son contact de sortie.

L'inverseur tripolaire permet en position I de mettre les condensateurs et l'itérateur en circuit, pour les mesures relatives à la fibre sensitive. En position II, c'est le chronaximètre qui entre seul en jeu, soit pour les déterminations des paramètres du nerf moteur, soit pour la mesure de la résistance de la fibre sensitive. Cette simplicité de manœuvre a été rendue nécessaire par le fait que l'opérateur doit passer rapidement sur le circuit utilisant le chronaximètre, aussitôt après la mesure de la rhéobase et de la chronaxie par le système condensateur-itérateur.

Le chronaximètre est le chronaximètre de précision de L. Lapicque; le cercle est gradué en dix millièmes de seconde

et le vernier permet d'apprécier le cent-millième de seconde.

Le double inverseur permet les manœuvres suivantes :

1. Faire passer le courant dans la préparation et le galvanomètre ;

2. Faire passer le courant directement dans la préparation afin d'éviter l'introduction d'un retard à l'établissement du courant, pour les passages brefs ;

3. Faire passer le courant par le galvanomètre et la boîte de résistances.

Le galvanomètre est un galvanomètre apériodique à cadre mobile du type Desprez-d'Arsonval. Sa sensibilité en ampère par millimètre sur échelle placée au centre de courbure du miroir (1 mètre) est égale à 31.10^{-10}, sa durée d'oscillation simple de 6,4 secondes. Pratiquement, il donne en balistique une élongation de 6 mm. pour un courant de 1 micro-ampère pendant 1/10e de seconde.

Le shunt a été décrit ; rappelons qu'il comprend une résistance de 7.000 ohms et une de 10.000 ohms, shuntées par une troisième de 3.000 ohms.

La boîte de résistance est un modèle à fiches permettant de mesurer des résistances de 1.000 à 200.000 ohms, de 1.000 en 1.000 ohms. Ces résistances sont constituées par des enroulements à double fil pour éviter tout retard à l'établissement du courant par self-induction, ce qui n'aurait d'ailleurs dans ce cas pas grande importance, puisqu'il s'agit d'évaluer une quantité d'électricité.

L'appareillage comprend enfin un « banc d'excitation » destiné aux mesures des paramètres de l'excitabilité centripète. Il est constitué par un bloc de liège de 30 cm. de long sur 10 de large, pouvant ainsi recevoir deux grenouilles ; chacune est maintenue en place par un crochet, recouvert de toile isolante, qui supporte la pince d'Ombredanne par laquelle la grenouille a été rendue spinale. Une bande adhésive maintient le corps de l'animal appliqué contre le liège et évite tout déplacement. Latéralement, sont fixés deux systèmes d'électrodes constitués par une tige d'ébonite parcourue intérieurement par les fils d'argent des électrodes ; à une

extrémité, ces fils sont soudés à des colliers de serrage recevant les conducteurs du circuit d'excitation ; à l'autre extrémité, ils dépassent le support d'ébonite de 15 mm. avec un écartement de 10 mm. Ils sont destinés à être placés sous le sciatique de la patte droite. Les signes électriques des électrodes sont disposés de façon à opérer en courant ascendant pour éviter à l'influx de traverser une région de polarisation anodique.

Les excitateurs sont orientables grâce à un montage à rotule. Un goutte à goutte est adapté au support d'électrodes, afin que le nerf soit constamment baigné soit de liquide de Ringer, soit de ce même liquide additionné de la substance étudiée.

Enfin, creusé dans le liège, sous la cuisse droite de la grenouille, est prévu un godet d'évacuation du liquide ayant servi au lavage du nerf.

La figure 5 donne une vue d'ensemble de l'appareil et la figure 4 montre de quelle façon la grenouille est disposée au cours de l'expérience.

TECHNIQUE DES MESURES.

La grenouille (Rana Esculenta L. uniquement) est rendue spinale par écrasement du bulbe avec la pince d'Ombredanne, puis laissée suspendue pendant une demi-heure. Ce temps écoulé, on l'installe sur l'appareil décrit ci-dessus, la patte gauche restant libre, la droite maintenue par des aiguilles de verre. On dégage alors le sciatique droit sur une longueur de 20 mm. environ en évitant toute hémorragie ; comme l'artère crurale accompagne le nerf et y est assez étroitement attachée, il nous paraît utile de signaler que nous les séparons au moyen d'une aiguille de verre, rôdée à son extrémité. Le nerf ainsi libéré est alors chargé sur les électrodes préalablement chlorurées. L'humidité physiologique du nerf est assurée à partir de ce moment par la chute, toutes les trois secondes, d'une goutte de liquide de Ringer. Après une demi-heure de repos, on commence les déterminations.

On arrête le goutte à goutte et on absorbe, avec un tampon de coton, le liquide retenu entre le tronc nerveux et la masse musculaire sous-jacente.

L'inverseur tripolaire est disposé de façon à utiliser le circuit condensateur-itérateur. Par l'inverseur 2, on retire le galvanomètre du circuit et on dispose l'inverseur 3 de manière à opérer sur la grenouille choisie. On met l'itérateur en marche et à l'aide de la clef de Morse, on lance le courant dans le circuit, le temps nécessaire au passage de 3 stimuli ; on cherche alors avec une capacité de 2 microfarads, le voltage minimum nécessaire pour déclancher le moindre mouvement des doigts de la patte gauche. *On note ce voltage rhéobasique.*

On double le voltage rhéobasique et on cherche, en montant, la plus petite capacité nécessaire pour provoquer le réflexe, en utilisant le même test. On a à ce moment la *capacité chronaxique.*

Après avoir vérifié le voltage rhéobastique, on substitue, par l'inverseur tripolaire, le chronaximètre au système condensateur-itérateur et par l'inverseur 2 on intercale le galvanomètre dans le circuit. Après stabilisation du spot du galvanomètre et mise au 0 de la règle, on envoie dans le nerf une onde rectangulaire de 1/10^{e} de seconde. On retient la déviation du spot.

Les mesures sur la préparation étant terminées, on remet en marche le goutte à goutte.

Enfin, on substitue à la préparation la boite de résistance et, toujours sous voltage rhéobasique, on détermine par tâtonnements, avec l'onde rectangulaire de 1/10^{e} de seconde, la résistance à mettre en circuit pour obtenir la même déviation du spot.

Ces mesures sont effectuées toutes les dix minutes et l'ensemble des opérations rapportées ci-dessus prenant de 2 à 3 minutes à un expérimentateur exercé, on opère très facilement sur deux sujets au cours d'une expérience.

Dès que l'on a obtenu la stabilisation des préparations, c'est-à-dire que les valeurs de la rhéobase et de la chronaxie

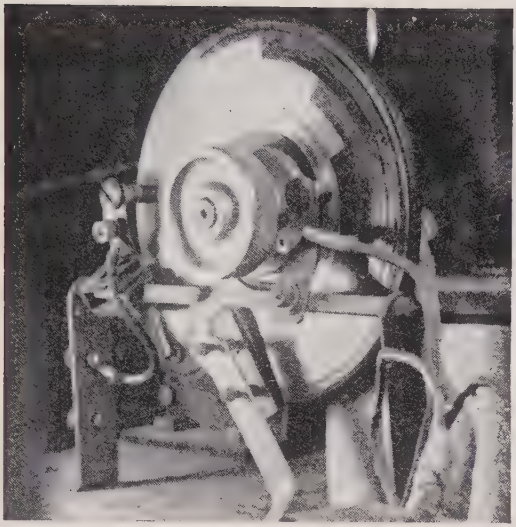


FIG. 2 — *Disque réglant le rythme.*

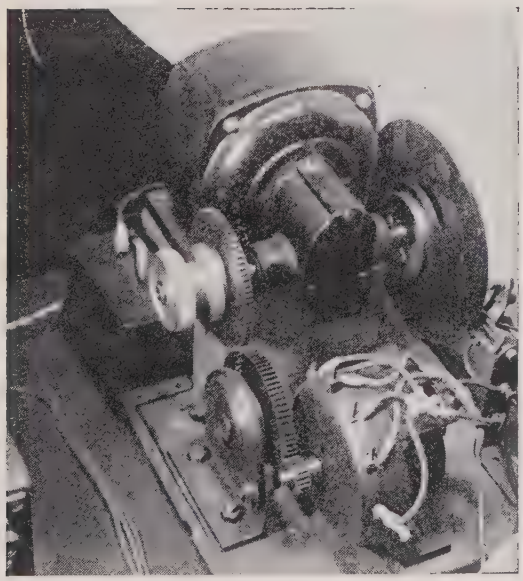


FIG. 3. — *Itérateur.*

Fig. 4. — *Animal maintenu sur le banc d'excitation. A droite, un excitateur. En haut, on aperçoit les pattes de la deuxième grenouille.*

Fig. 5. — *La cuisse de la grenouille est maintenue par deux aiguilles de verre. La patte est disposée sur un papier blanc pour en mieux saisir les mouvements.*

restent voisines au cours de deux séries de mesures, on remplace le liquide physiologique qui humectait le nerf par la solution du produit à étudier dans ce même liquide.

Après cinq minutes d'action, on reprend à nouveau les mesures de dix en dix minutes. A la fin de chaque essai, on calcule les valeurs de E à l'aide de la formule donnée plus haute : $E = \frac{1}{2\,C\,V^2} \frac{(13 + R)\,(121 + 10\,R)}{27\,R}$

Les valeurs du facteur $\theta = \frac{(13 + R)\,(121 + 10\,R)}{2 \times 27\,R}$ sont obtenues immédiatement grâce à une abaque. Le calcul se réduit ainsi à l'application de la formule :

$$E = \frac{\theta}{C\,V^2}$$

θ étant fonction de R, V étant le voltage rhéobasique en volts et C la capacité chronaxique en millièmes de microfarads.

CHAPITRE II

ACTION DE LA TOXINE STAPHYLOCOCCIQUE SUR LE NERF SENSITIF

Nous avons tout d'abord étudié sur la fibre nerveuse sensitive l'action exclusive d'une toxine chauffée quinze minutes à 100°. Tandis que le sciatique d'une grenouille recevait du liquide de Ringer pur, servant ainsi de témoin, l'autre nerf de l'autre animal était arrosé par un mélange de filtrat toxique inactivé et de Ringer. Quelques expériences réalisées avec des teneurs de toxine chauffée différentes nous ont montré clairement que si l'on prend soin d'ajuster le pH du liquide de Ringer destiné à la stabilisation, à la même valeur que celui du mélange toxine chauffée-Ringer, les paramètres de l'excitabilité du nerf sont peu modifiés. Voici, à titre indicatif, une expérience montrant que les variations sont de faible amplitude et surtout constantes :

H	V	C	R	E
15,30	0,70	40	55	1,0
40	0,67	35	53	1,0
50	0,65	40	53	0,9
15,35	toxine inactivée 0,5 pour 100			
16,05	0,63	45	50	0,8
15	0,63	40	50	0,9
25	0,60	43	50	1,0
35	0,65	45	53	0,8
45	0,69	45	55	0,8

20 novembre 1943.

♀ 29 gr. — spinale à 14.10 h.

Nous rappelons que H représente l'heure à laquelle les mesures ont été effectuées, V exprime le voltage rhéobasique, C la capacité chronaxique, R la résistance du nerf en milliers d'ohms, E l'excitabilité calculée suivant la formule exposée page 69.

Nous avons pu expérimenter de la même façon que pour les ferments ; c'est-à-dire que nous avons opéré, non plus en présence d'un témoin recevant une toxine inactivée mais parallèlement avec une dose différente de toxine active. Ainsi, la dose de 0,5 cc. de toxine pour cent a été étudiée simultanément avec celle de 1 cc. de toxine pour cent de liquide de Ringer.

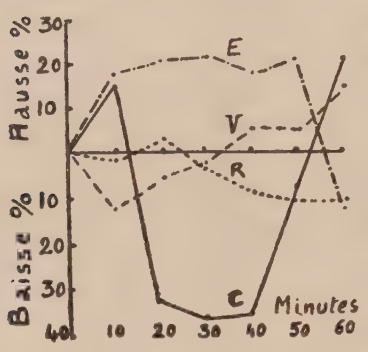
Nous présentons les résultats obtenus d'une part avec la toxine staphylococcique souche Nélis titrant 11 unités antitoxiques, d'autre part avec la toxine souche Wood titrant 15 unités antitoxiques.

1° - ACTION DE LA TOXINE OBTENUE A PARTIR DE LA SOUCHE 72 NÉLIS.

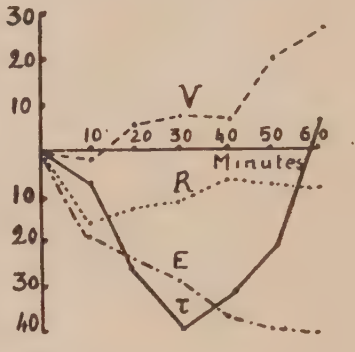
Nous avons choisi, pour commencer les essais, la dose de 0,5 cc. de toxine pour 100 cc. de liquide de Ringer, celle-ci correspondant pour le nerf moteur au début d'activité marquante.

Les courbes du graphique 31 rendent compte de la moyenne des variations enregistrées au cours de ces essais. La chronaxie subit une brève hausse avant de passer à une valeur de 30 % inférieure à celle de stabilisation ; à la fin de l'essai, elle remonte et atteint un maximum de hausse de 22 %. La rhéobase diminue puis, au milieu de l'expérience, remonte d'une valeur égale, ses variations ne dépassant pas 15 %. La résistance, peu touchée au début, baisse dans la deuxième moitié de l'essai. L'excitabilité est augmentée notablement mais amorce à la 40e minute un mouvement de descente qui se transforme, pour les teneurs en toxine plus élevées, en une baisse importante.

Avec 1 cc. de toxine mélangé aux 100 cc. de liquide de Ringer, on observe une baisse immédiate de la chronaxie puis cette variable suit une courbe analogue à celle obtenue avec la dose inférieure. La rhéobase ne subit pas de chute mais garde sa valeur initiale pendant un certain temps, puis monte de façon régulière. La résistance est abaissée dès la



Graphique 31
Toxine Nélis 0,5 cc. %



Graphique 32
Toxine Nélis 1 cc. %

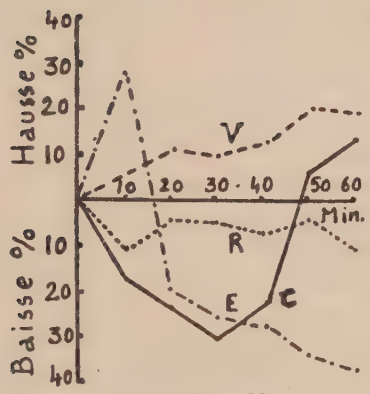
10e minute, où elle atteint son maximum de baisse. Enfin, l'excitabilité après une hausse de près de 35 % tombe rapidement à un maximum de baisse de 15 % en fin d'expérience.

Les courbes du graphique 32 rendent compte de ces variations.

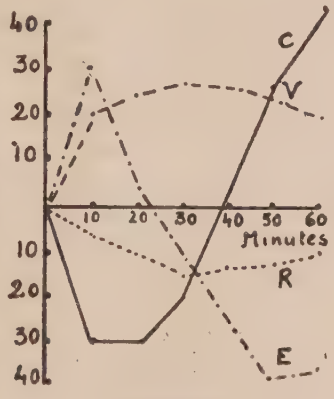
La dose de 2 cc. pour 100 constitue la dose-type provoquant les variations caractéristiques observées au cours de ces essais. On note, pour la chronaxie, une chute nette, d'emblée, passant par un maximum, puis une remontée très rapide qui dépasse la valeur de stabilisation de façon appréciable. La rhéobase s'élève très progressivement. La résistance est abaissée dès le début jusqu'à une valeur où elle se maintient jusqu'à la fin de l'expérience. Au total, l'excitabilité monte, passe par un maximum puis redescend et atteint, à la 60e minute, un maximum de baisse ; la hausse de chronaxie et la chute d'excitabilité sont contemporaines (graphique 33 et essai-type ci-dessous).

H	V	C	R	E
10,30	1,10	60	70	2,6
10,40	1,15	55	68	2,6
45		Toxine 2 cc. pour cent.		
55	1,20	40	60	3,0
11,05	1,30	45	60	2,2
15	1,54	60	60	1,8
25	1,48	47	55	1,5
35	1,29	50	60	2,1
45	1,50	55	55	1,3

♂ 21 gr. - 3-12-43.



Graphique 33
Toxine Nélis 2 cc. %



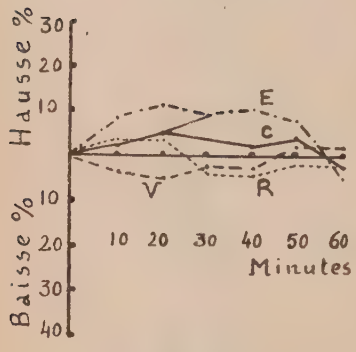
Graphique 34
Toxine Nélis 5 cc. %

Enfin, la dose finale de 5 cc. de toxine mélangés à 95 cc. de Ringer produit des modifications analogues à celles de la teneur en toxine inférieure, mais notablement plus accusées, comme le font comprendre les courbes des moyennes de cinq essais figurant au graphique 34.

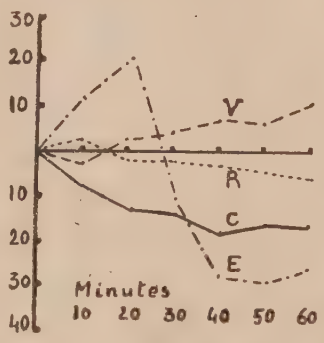
2° - ACTION SUR LA FIBRE SENSITIVE DE LA TOXINE OBTENUE A PARTIR DE LA SOUCHE WOOD.

Les expériences ont été effectuées avec les mêmes doses que pour la toxine obtenue avec la souche Nélis. Pour une teneur du Ringer de 0,5 cc. pour cent de toxine — graphique

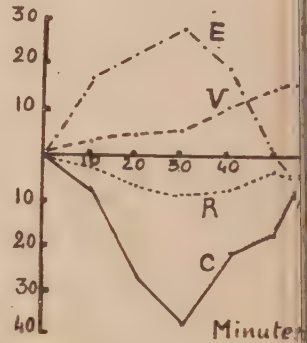
36 — seules la rhéobase et la résistance subissent des modifications comparables à celles obtenues sous l'influence de toxine souche Nélis ; la rhéobase baisse, puis remonte, et la résistance s'élève légèrement pour retomber aussitôt. La chronaxie baisse dès le début et cette baisse est très régulière, jusqu'à la 40e minute, où elle se stabilise en un plateau. L'excitabilité monte régulièrement, passe par un maximum, puis retombe légèrement.



Graphique 35
Toxine Wood inactivée
0,5 cc. %



Graphique 36
Toxine Wood active
0,5 cc. %



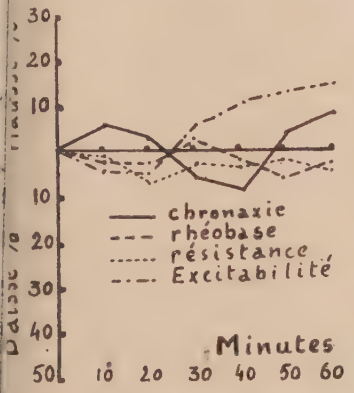
Graphique 37
Toxine Wood active
1 cc. %

Avec la dose de 1 cc. pour 100, on observe des variations de chaque paramètre absolument semblables à celles produites par la même dose de toxine souche Nélis : la chronaxie baisse d'abord d'une faible quantité, puis brusquement elle tombe et passe par un maximum de baisse vers la 30e minute ; elle remonte ensuite régulièrement et arrive même en fin d'expérience à dépasser sa valeur initiale. La rhéobase monte lentement, mais de façon très progressive, et la résistance diminue. L'excitabilité s'élève jusqu'à un maximum pour retomber ensuite. La comparaison des graphiques 32 et 37 permet de se rendre compte de la similitude d'action des deux toxines.

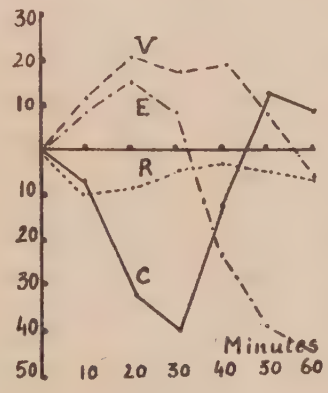
Le taux de toxine étudié ensuite — 2 cc. de toxine pour 100 — (graphique 39) montre une chute de chronaxie puis, après passage par un maximum, une remontée dépassant la valeur de stabilisation, une hausse de rhéobase et une baisse de

résistance se stabilisant aux environs de 10 %. L'excitabilité monte suivant une courbe en cloche très régulière ; notons qu'en fin d'essai, la baisse dépasse la valeur de stabilisation.

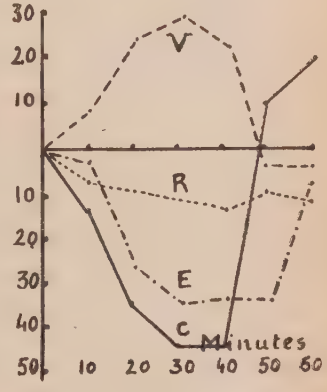
Pour terminer, un mélange à 5 pour 100 de toxine produit des variations se traduisant par des courbes identiques aux précédentes mais accentuées (graphique 40). La chronaxie baisse très rapidement dans la première moitié de l'essai, remonte ensuite brusquement et dépasse sa valeur initiale.



Graphique 38
Toxine Wood inactivée
2 cc. %



Graphique 39
Toxine Wood active
2 cc. %



Graphique 40
Toxine Wood active
5 cc. %

La rhéobase agit comme pour la dose précédente. La résistance diminue également, mais de façon plus importante. Quant à l'excitabilité, sa courbe est, elle aussi, identique à celle obtenue avec une teneur en toxine de 2 cc. pour 100.

Quelques expériences avec de la toxine inactivée ont été entreprises dans un simple but de contrôle. Avec une dose faible telle que 0,5 cc. de toxine pour 100, les variations sont faibles et peuvent être considérées comme négligeables (graphique 35). Avec une dose plus élevée, telle que 2 cc. de toxine pour 100 de Ringer, on observe des variations qui rappellent celles que fournissait le taux de 0,5 cc. pour 100 de toxine souche Nélis, non chauffée, avec cette différence qu'elles sont retardées et de faible amplitude ; ainsi, la haûsse initiale de chronaxie provoquée par la toxine Nélis

est brève et importante ; avec la toxine Wood inactivée, cette élévation est moins forte, mais plus durable. La comparaison des graphiques 31 et 38 permet de se rendre facilement compte de ce parallélisme. Les deux essais-type suivants illustrent les graphiques 38 et 39.

Toxine chauffée 2 *cc. pour* 100.

H	V	C	R	E
11,05	0,75	30	40	8,0
15	0,70	35	40	8,0
20	Toxine chauffée 2 cc. pour 100			
30	0,70	35	40	8,0
40	0,67	40	35	7,0
50	0,65	35	35	8,5
12,00	0,65	35	37	8,9
10	0,63	30	35	9,8
20	0,65	30	35	9,8

♀ 29 gr. - 27-11-43

Spinale à 9 h. 30

Toxine 2 *cc. pour* 100

H	V	C	R	E
11,10	0,80	40	35	4,9
20	0,70	45	35	4,7
25	Toxine 2 cc. pour 100			
35	0,75	40	35	5,6
45	0,80	30	30	6,0
55	0,85	25	27	6,1
12,05	0,95	35	30	3,6
15	0,80	48	27	3,5
25	0,70	50	25	4,4

♀ 29 gr. - 27-11-43

Spinale à 9 h. 30

CHAPITRE III

ACTION DES FERMENTS SUR LA FIBRE SENSITIVE

Ces essais sur le nerf sensitif itératif ont été effectués avec les ferments étudiés précédemment — pepsine, trypsine et papaïne — de provenance identique et de titre semblable.

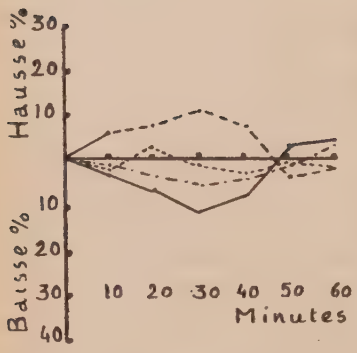
Le principe de la technique suivie a été le même que celui employé pour le nerf moteur, c'est-àdire que nous avons expérimenté sur deux animaux en même temps, chacun recevant une dose différente de ferment.

1° ACTION DE LA PEPSINE SUR LE NERF SENSITIF.

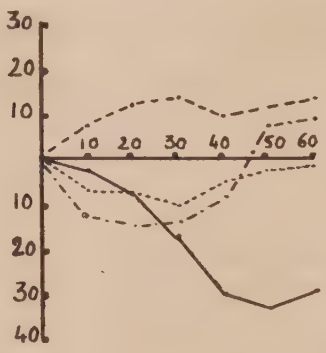
Nous nous en sommes tenus aux doses révélées actives par le nerf moteur. Les essais ont été entrepris avec une solution de Ringer à 5 centigrammes pour cent (graphique 41). La chronaxie baisse pendant la première moitié de l'expérience, remonte dans la seconde pour dépasser sa valeur de stabilisation vers la 50e minute. La rhéobase est modifiée de façon exactement inverse : hausse puis baisse, la diminution allant jusqu'en dessous de la valeur initiale. La résistance ne varie pas beaucoup ; on enregistre seulement une légère baisse. L'excitabilité diminue très régulièrement puis, vers le milieu de l'expérience, remonte de la même façon.

Avec une solution à 0,10 gr. pour 100 (graphique 42), les variations sont plus nettes et plus importantes. La chronaxie

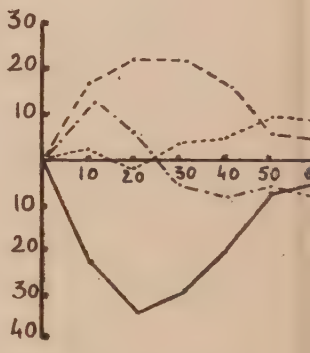
baisse et n'accuse la tendance à remonter que vers la 50e minute. Dans le cas particulier de l'essai-type, il n'y a pas de remontée, mais un plateau. La rhéobase augmente et le mouvement de chute — à la 40e minute — est à peine marqué. La résistance baisse, mais remonte dans la seconde moitié de l'expérience. Quant à l'excitabilité, la remontée, pres-



Graphique 41
0 gr. 05 de pepsine



Graphique 42
0 gr. 10 de pepsine



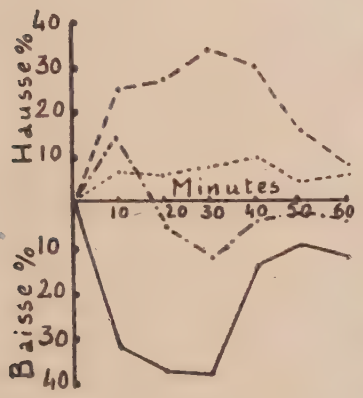
Graphique 43
0 gr. 25 de pepsine

sentie avec la dose précédente de ferment, atteint un maximum égal à celui que l'on enregistre au moment de la baisse.

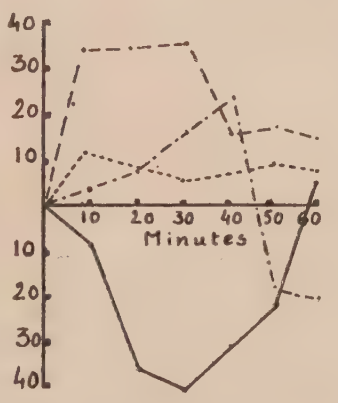
La dose supérieure — 0,25 gr. pour 100 (graphique 43) — fait apparaître des variations totalement différentes. La baisse de chronaxie est beaucoup plus marquée et plus rapide, la remontée est aussi très rapide en sorte qu'à la fin de l'essai cette variation est presque revenue à sa valeur initiale. La rhéobase monte, puis retombe. La résistance, après une période stationnaire, commence à monter, contrairement aux essais examinés jusqu'ici, mais ne dépasse pas un maximum de hausse de 8 %.

L'excitabilité résume ces modifications : après une élévation de peu de durée, elle redescend en-dessous de sa valeur de départ et se maintient à sa nouvelle valeur de façon très constante.

Avec les deux doses de pepsine expérimentées ensuite (graphiques 44 et 45) on retrouve les mêmes variations : chute de chronaxie, élévation de la rhéobase, élévation de la résistance. L'augmentation d'excitabilité enregistrée dans les 20 premières minutes avec une teneur de 0,25 gr. %, se retrouve, avec 0,5 gr. %, mais plus intense en valeur absolue



Graphique 44
0 gr. 5 de pepsine



Graphique 45
1 gr. de pepsine

(15 % au lieu de 11 %) ; on l'observe aussi avec la dose de 1 gr. %, plus forte encore (22 %), mais surtout plus étendue dans le temps.

De l'ensemble de ces essais, on peut conclure que la pepsine : — abaisse la chronaxie sensitive,

— augmente la rhéobase,

— augmente la résistance,

— abaisse l'excitabilité après l'avoir élevée plus ou moins longtemps, avec plus ou moins d'intensité.

L'expérience-type suivante correspond au graphique 44.

Pepsine 0,50 gr. pour 100

H	V	C	R	E
16,40	0,69	40	70	1,0
50	0,65	42	70	1,0
55	Pepsine 0,50 gr. pour 100			
17,05	0,70	35	74	1,1
15	0,78	30	75	0,9
25	0,85	26	75	0,9
35	0,82	25	75	1,2
45	0,77	30	75	1,1
55	0,72	30	75	1,2

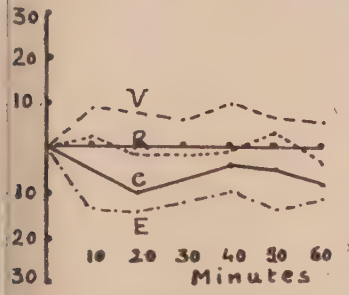
♀ 40 gr. - Spinale à 14 h. 50 - 18-12-43.

Si l'on compare les essais effectués sur le nerf moteur et ceux réalisés sur la fibre sensitive, on constate que la chronaxie et la rhéobase sont modifiées dans le même sens dans les deux cas ; que la résistance du nerf sensitif est augmentée pour toutes les doses essayées alors que celle du nerf moteur s'élève avec des teneurs inférieures à 0,25 gr. % et reste inchangée avec les taux plus élevés. Enfin, en ce qui concerne l'excitabilité, les variations sont analogues pour les doses inférieures à 0,25 gr. %. Au-dessus de cette teneur, le nerf moteur ne permet d'observer qu'une baisse alors que le nerf sensitif enregistre une hausse préalable qui peut être très importante avec les hautes teneurs telles que 1 gr. %.

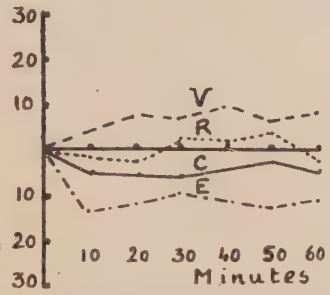
2° - ACTION DE LA TRYPSINE SUR LE NERF SENSITIF.

Les variations enregistrées avec des solutions de trypsine à faible teneur sont peu importantes ; si l'on se reporte aux essais réalisés sur le nerf moteur avec des solutions à 0,10 gr. de trypsine pour cent (graphique 24), on constate que cette dose est déjà très active alors que la même, agissant sur le nerf sensitif, l'est à peine. Toutefois, la constance des varia-

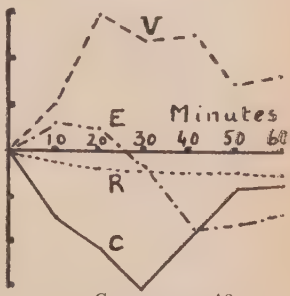
tions observées tant avec le taux de 0,10 gr. pour 100 qu'avec celui de 0,05 gr., autorise à tenir compte de ces expériences que l'on pourrait qualifier d'expériences-seuil. Les graphiques 46 et 47, qui en sont la synthèse, nous montrent



GRAPHIQUE 46
Trypsine 0 gr. 05 %



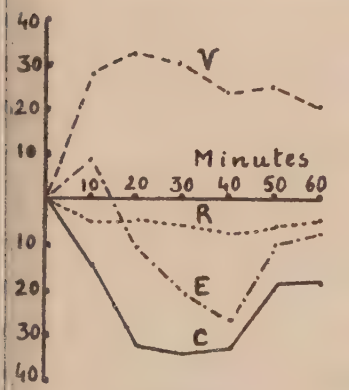
GRAPHIQUE 47
Trypsine 0 gr. 10 %



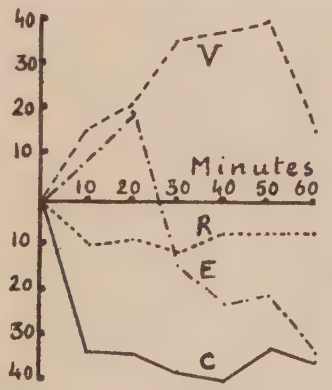
GRAPHIQUE 48
Trypsine 0 gr. 25 %

qu'à ces faibles doses, la trypsine abaisse la chronaxie, élève la rhéobase, modifie peu la résistance ou l'abaisse légèrement, et, tout compte fait, diminue l'excitabilité.

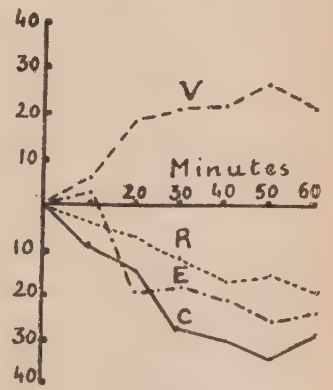
Lorsqu'on aborde des teneurs en ferment supérieures, on observe des variations analogues mais intensifiées et propor-



GRAPHIQUE 49
Trypsine 0 gr. 5 %



GRAPHIQUE 50
Trypsine 1 gr. %



GRAPHIQUE 51
Papaïne 0 gr. 5 %

tionnelles aux quantités de trypsine mise en jeu. L'excitabilité subit une élévation de courte durée avant d'être abaissée jusqu'en-dessous de sa valeur de départ. Cette hausse initiale est passagère mais toujours nettement marquée : 5 % de

hausse pendant 20 minutes pour la dose de 0,25 gr. % et près de 10 % pendant 10 minutes pour celle de 0,50 gr. % ; elle atteint un maximum de près de 25 % dans le cas de la solution à 1 gr. %.

Ces constatations se dégagent de l'examen des graphiques 48, 49 et 50. Ci-dessous un des essais ayant servi à établir le graphique 48.

0,25 *gr. de Trypsine pour* 100

H	V	C	R	E
—	—	—	—	—
16,50	0,87	68	30	2,3
17,00	0,84	60	30	2,6
05	Trypsine 0,25 gr. pour 100			
15	0,89	50	28	2,9
25	0,90	50	27	2,7
35	0,97	40	27	2,9
45	1,05	45	27	2,2
55	1,00	55	28	2,0
18,05	0,92	55	28	2,5

♀ 29 gr. - 4-1-44 - spinale à 15 h.

En conclusion, si la chronaxie et la rhéobase de la fibre motrice et de la fibre sensitive évoluent dans un sens analogue, l'excitabilité qui baisse d'emblée dans le cas du tronc nerveux moteur, subit une élévation avant d'être abaissée, dans le cas du nerf sensitif.

La même constatation a été faite au sujet de la pepsine.

Il est peut-être utile d'ajouter que la résistance sensitive est moins touchée que la résistance motrice, mais que l'importance de la chute de ce paramètre est remarquablement proportionnelle au taux de ferment en solution, comme d'ailleurs nous l'avons signalé au cours de l'étude du nerf moteur.

3° - ACTION DE LA PAPAINE SUR LE NERF SENSITIF.

Pour ce ferment, seul est présenté le graphique relatif au taux de 0,50 gr. %, les variations dont il rend compte étant les plus caractéristiques de l'ensemble des doses de papaïne

étudiées. Ces variations sont en tous points semblables à celles que provoque la trypsine.

1° La chronaxie baisse assez régulièrement jusqu'à un maximum, puis tend à remonter.

2° La rhéobase augmente également de façon très régulière.

3° La résistance baisse.

4° L'excitabilité augmente d'abord, mais retombe aussitôt, en sorte qu'on peut dire que dans l'ensemble le nerf est moins excitable.

Quantitativement, on remarque que la résistance subit une diminution bien plus considérable qu'avec la trypsine, ce qui avait déjà été noté lors de l'étude de ces ferments sur le nerf moteur. Ajoutons que la hausse d'excitabilité initiale est faible comparée à celle que l'on enregistre avec la pepsine ou la trypsine.

L'expérience suivante a été effectuée avec la solution de papaïne à 0,50 gr. pour cent cc. de Ringer.

0,50 gr. de Papaïne pour 100 cc. de Ringer

H	V	C	R	E
—	—	—	—	—
14,40	0,80	45	70	6,5
50	0,80	40	70	7,4
55	Papaïne 0,5 gr. pour 100			
15,05	0,85	38	70	7,7
15	0,95	35	68	6,0
25	0,98	30	65	6,3
35	0,98	30	65	6,3
45	1,05	35	60	4,2
55	1,05	30	60	4,9

♀ 30 gr. - 8-1-44 - spinale à 13 h.

En résumé, ces ferments agissent sur la fibre sensitive de la façon suivante :

— La chronaxie est abaissée.

— La rhéobase augmente.

— La résistance est élevée par la pepsine, diminuée par la trypsine, diminuée notablement par la papaïne.

— L'excitabilité baisse immédiatement avec les faibles doses de ferment ; baisse après un mouvement de hausse avec de plus hautes doses ; ce mouvement de hausse étant le plus important avec la pepsine, le moins important avec la papaïne.

Enfin, si l'on compare l'action de ces ferments sur le nerf moteur et leur action sur le nerf sensitif, on doit reconnaître que, dans l'ensemble, les modifications des paramètres de l'excitabilité sont similaires, sauf en ce qui concerne l'excitabilité qui est diminuée dès les premières minutes d'action quand il s'agit du nerf moteur et qui, nous venons de le voir, commence par s'élever avant de subir l'abaissement lorsqu'on expérimente sur le nerf sensitif.

CONCLUSIONS

Le but du présent travail était d'apporter une contribution à l'hypothèse selon laquelle les principes toxiques sécrétés par les microbes seraient assimilables aux ferments. Cette hypothèse qui, rappelons-le, a trouvé des appuis sérieux dans les travaux de G. Ramon (86) qui ont mis en évidence le parallélisme existant entre les toxine, antitoxine et anatoxine d'une part, les ferments, antiferments et anaferments d'autre part, méritait d'être examinée de plus près, du point de vue expérimental.

Comme principe toxique d'origine microbienne, nous nous sommes adressés à la toxine staphylococcique, laquelle, nous l'avons exposé dans l'introduction, apparaît bien comme constituée, au moins pour partie, par certains enzymes.

Nous appuyant sur le fait que l'une des propriétés primordiales de cette toxine se manifeste par une action neurotoxique, nous avons songé à comparer l'activité de la toxine staphylococcique sur les nerfs à celle de ferments divers. Dans ce but, nous avons fait appel à la méthode de chronaxie qui, on le sait, permet de connaître de façon précise la sensibilité des organes interrogés par la détermination des deux paramètres de l'excitabilité : chronaxie et rhéobase. Mais pour connaître au surplus les variations de l'excitabilité elle-même considérée selon l'hypothèse de Lasalle-Lapicque comme l'inverse de l'énergie électrique nécessaire pour déclancher l'excitation, nous avons expérimenté selon la technique qui a été proposée par Regnier et Quevauviller sur le nerf moteur (97) et par ce dernier auteur sur le nerf sensitif (82). Nous avons exposé en détail les données théoriques et pratiques de ces techniques.

Rappelons simplement ici qu'elles comportent, outre la détermination de la chronaxie et de la rhéobase, celle de la résistance au courant galvanique du tissu interrogé, ce qui permet d'exprimer, d'une part la rhéobase non plus par un voltage comme on a coutume de le faire, mais par une intensité ; d'autre part de calculer l'énergie électrique liminaire dépensée dans la préparation dont l'inverse donne, pour les conditions expérimentales précises dans lesquelles on se place, une expression valable de l'excitabilité.

Après avoir exposé les procédés de préparation, les propriétés, la constitution et le titrage de la toxine staphylococcique, nous avons en premier lieu étudié l'action sur le nerf des milieux de culture utilisés pour la production de cette toxine et constaté que, si l'on a soin de stabiliser la préparation à un pH semblable à celui des diverses dilutions de milieux de culture, les paramètres de l'excitabilité sont peu modifiés.

Nous avons alors étudié, dans une première partie, successivement, sur le nerf moteur, l'action de la toxine staphylococcique, de la pepsine, de la trypsine et de la papaïne.

Les essais, portant sur la toxine, ont été réalisés avec un filtrat obtenu en cultivant un staphylocoque souche 72 Nélis sur milieu R.A.P. et avec un filtrat obtenu à partir d'un staphylocoque Wood, sur milieu synthétique. Chaque essai était effectué en présence d'un témoin constitué par une dose égale de toxine inactivée par un chauffage suffisant.

De ces essais, il ressort que, sous l'influence du poison staphylococcique et pour des doses suffisamment élevées :

1° La chronaxie baisse, puis remonte et se stabilise ou redescend légèrement.

2° La rhéobase s'élève, puis retombe en-dessous de sa valeur de stabilisation.

3° La résistance baisse avec la toxine souche Wood et varie peu avec la toxine souche Nélis.

Au total, l'excitabilité augmente, puis diminue.

Les ferments envisagés — pepsine, trypsine, papaïne — agissent de la façon suivante :

1° La chronaxie baisse.

2° La rhéobase monte.

3° La résistance monte ou ne varie pas avec la pepsine, baisse avec la trypsine et la papaïne.

4° l'excitabilité diminue.

Dans l'ensemble, nous voyons que l'action de la toxine staphylococcique s'apparente assez à celle des ferments du type trypsine et papaïne, la pepsine provoquant souvent une élévation de la résistance qui n'est jamais observée avec la toxine.

Si nous constatons avec la toxine une hyperexcitabilité d'ailleurs transitoire qui n'existe pas avec les ferments, rappelons que nous avons observé un tel mouvement de l'expression d'excitabilité avec la toxine chauffée (graphique 17 a). Il serait peut-être hasardeux d'attribuer cette première phase d'hyperexcitabilité à l'action de la toxine elle-même. Pour notre part, nous croyons qu'il s'agit là de l'action de produits thermostables résultant du métabolisme du staphylocoque.

Quant aux variations de la résistance, identiques dans le cas de la toxine comme dans le cas de la trypsine et de la papaïne, elles traduisent un état similaire de réaction de la gaine limitante, ce qui impliquerait une nature moléculaire identique. Enfin, il faudrait voir dans la hausse de chronaxie provoquée par la toxine, la traduction du pouvoir toxique ; avec les faibles doses de toxine, cette hausse est immédiate (pas ou peu de pouvoir fermentaire) ; avec les doses élevées l'action toxique est précédée d'une phase de lyse.

La deuxième partie de ce travail expose le résultat de l'action de la toxine staphylococcique et des ferments déjà cités sur la fibre sensitive. La toxine, aussi bien celle obtenue à partir de la souche Wood que celle produite par la souche Nélis, abaisse la chronaxie, puis l'élève d'autant plus vite que la dose de toxine est plus forte — élève la rhéobase, puis dans le cas de la toxine souche Wood, l'abaisse vers la 50e minute d'action — diminue la résistance — augmente l'excitabilité dans la première moitié de l'essai, puis l'abaisse considérablement dans l'autre moitié.

L'action des ferments se résume dans le tableau suivant :

1° La chronaxie est abaissée.

2° La rhéobase est augmentée.

3° La résistance est élevée par la pepsine, abaissée par la trypsine, abaissée fortement par la papaïne.

4° L'excitabilité baisse avec les faibles pourcentages de ferment, alors que les pourcentages plus élevés (0,5 à 1 gr. %) produisent une élévation considérable.

Ici, plus encore qu'avec le nerf moteur, nous constatons une analogie d'action entre la toxine staphylococcique et les ferments du type trypsine et papaïne. La chronaxie est abaissée, la rhéobase monte, la résistance est abaissée et l'excitabilité monte puis baisse fortement ; cette similitude de variation de l'excitabilité est très nette avec les doses élevées de ferments.

Nous pensons donc pouvoir conclure de nos essais que l'action de la toxine staphylococcique sur les troncs nerveux moteur et sensitif, examinée par la méthode chronaximétrique, s'apparente à celle de certains ferments comme la trypsine et la papaïne, mais non à celle de la pepsine.

La toxine se conduit comme un ferment à forte action protéolytique ; en effet, elle se comporte comme la trypsine qui exerce son pouvoir lytique sur les substances protidiques. jusqu'au stade peptides et acides aminés.

Notre travail apporte donc une confirmation à l'hypothèse qui fait de la toxine staphylococcique un ferment du type trypsique.

BIBLIOGRAPHIE

1. BURNET (F.-M.). — The production of staphylococcal toxin. (*J. Path. and Bact.*, 1930, 23, 1, et 1929, 32, 717.)

2. BURNET (F.-M.). — The interaction of staphylococcus toxin, anatoxin and antitoxin. (*Journ. Path. and Bact.*, 1931, 24, 471.)

3. BEUMER (J.). — Thermorésistance ou thermolabilité de l'hémolysine staphylococcique ; influence du pH. (*C. R. Soc. Biol.*, 1939, 130, 283.)

4. BEUMER (J.). — Action du saccharose sur le comportement à la chaleur de la staphylohémolysine. (*C. R. Soc. Biol.*, 1939, 130, 286.)

5. BEUMER (J.). — L'action du sérum de cheval normal sur la staphylotoxine. (*Ann. I. P.*, 1938, 61, 54.)

6. BONNET (H.) et NELIS (P.). — Action de la toxine staphylococcique injectée dans le canal rachidien chez le lapin. (*C. R. Soc. Biol.*, 1934, 117, 866.)

7. BIRCH-HIRSCHFELD (L.). — Die Sekretorische Staphylokokkenproteinase und ihre Beziehung zu den plasmawirksamen Stoffen pycgener Staphylokokken. (*Zentralbl. Bakter.*, 1940, I, orig. 145, 476.)

8. BRYCE (L.-M.) et ROUNTREE (P.-M.). — The production of B toxin by staphylococcy. (*Journ. Path. and Bact.*, 1936, 43, 173.)

9. CAHEN (R.) et BOSC (B.). — Action des peptones sur la chronaxie du pied d'escargot. (*C. R. Soc. Biol.*, 1937, 126, n° 31, 775.)

10. CAHEN (R.). — Action de l'insuline sur la chronaxie du pied d'escargot. (*C. R. Séances Ac. Sciences*, 1939, 209, n° 10, 447.)

11. CASMAN (E.-P.). — Staphylococcus studies. I. Toxin production. (*Journ. of Bact.*, 1937, 34, 35).

12. CHAUCHARD (B. et P.) et LENORMANT (H.). — Les modifications de l'excitabilité nerveuse motrice au cours du tétanos expérimental et leur déterminisme. (*C. R. Soc. Biol.*, 1942, 136, 662.)

13. CICARDO (V.-H.). — Modification de l'excitabilité nerveuse par action du venin de cobra. (*C. R. Soc. Biol.*, 1935, 120, 732.)

14. CRUICKSHANK (R.). — Staphylocoagulase. (*Journ. Path. and Bact.*, 1937, 45, 295.)

15. DENYS et VAN DE VELDE (H.). — Sur la production d'une antileucocidine chez les lapins vaccinés contre le staphylocoque pyogène. (*La Cellule*, 1895, 11, 357.)

16. DOLMAN (C.-E.). — Ingestion of staphylococcus exotoxin by human volunteers with special reference to staphyloccoci food poisoning. (*Journ. Inf. Dis.*, 1934, 55, 172)

17. DOPTER (Ch.) et SACQUEPÉE (E.). — Bactériologie. (1, 340, J.-B. Baillière et Fils, édit., Paris, 4e édit., 1931.)

18. FLAUM (A.) et FORSSMAN (J.). — Studies in staphylococci. V. Experimental investigation of staphylolysin. (*Acta Path. et Microb. Scand.*, 1936, 13, 263.)

19. FORSSMAN (J.). — Staphylolysinstudien. (*Acta Path. et Microb. Scand.*, 1934, 11, n° 4, 452.)

20. FRANZI. — Sulla lecitinolisi da veleno ofidico. (*Pathologica*, 1936, 28, 401-440.)

21. GANGULI (S.-N.). — Enzymes in Daboia and Cobra venoms. (*Indian Journ. Med. Res.*, 1936, 24, 287-294.)

22. GAUDIN. — Recherches sur l'action physiologique des Pyréthrines. (Thèse Doct. ès Sc., Paris, 1937.)

23. GAUTRELET (J.) et HALPERN (N.). — Action du venin de cobra sur l'excitabilité neuromusculaire de la grenouille. (*C. R. Soc. Biol.*, 1933, 113, 1486.)

24. GAUTRELET (J.), HALPERN (N.) et CORTEGGIANI (E.). — Du mécanisme d'action des doses physiologiques de venin de cobra sur la circulation, la respiration et l'excitabilité neuromusculaire. (*Arch. Intern. Physiol.*, 1934, 33, 2-3 et 293-352, et *C. R. Soc. Biol.*, 1934, 115, 942.)

25. GENGOU (O.). — Contribution à l'étude des poisons élaborés par les staphylocoques. (*Arch. Int. de Méd. Exp.*, 1930, 5, 633.)

26. GENGOU (O.). — Contribution à l'étude des antigènes et des anticorps staphylococciques. (*Ann. I. P.*, 1932, 48, 135.)

27. GENGOU (O.). — *Arch. Intern. Méd. Exp.*, 1933, 51, 14.)

28. GENGOU (O.). — *Arch. Int. Méd. Exp.*, 1935, 9, 413.)

29. GENGOU (O.) — Acides aminés et toxine staphylococcique. (*Ann. Inst. Pasteur*, 1935, 55, 129.)

30. GLADSTONE (G.-P.). — The production of staphylococcal and hoemolysin in a chemically defined medium. (*Brit. Journ. Exp. Path.*, 1938, 19, 208.)

31. GLENNY (A.-T.) et STEVENS (M.-F.). — Staphylococcus toxins and antitoxins. (*Journ. Path. and Bact.*, 1935, 40, 201.)

32. GLYNN (J.-H.). — The pathogenesis of cortical necrosis of the kidneys in rabbits following the infection of staphylococcus toxin. (*Amer. Journ. of Path.*, 1937, 13, 593.)

33. GRATIA (A.). — I. Actions diverses des microbes sur la coagulation du sang. — II. A propos de la coagulation du plasma oxalaté par le staphylocoque. (*C. R. Soc. Biol.*, 1919, 72, 1245.)

34. GROSS (H.). — Die Kulturfiltratstoffe der Staphylokokken und deren Beziehung zweinander. (*Zeitschr. f. Immunitœtsf.*, 1931, 73, 14.)

35. GROSS (H.). — Das Filtrathämolysin der Staphylokokken. (*Centralblatt f. Bakt.*, I, 1931, 123, 212.)

36. JAMIESON (W.-A.) et POWELL (H.-M.). — The immunology of staphylococcus toxin. (*Amer. Journ. of Hyg.*, 1934, 29, 246.)

37. JOYNER (A.-L.), RIGDON (R.-H.) et HORE (R.). — A study of the effects of staphylococcus exotoxin on leucocytes and on marrow of the rabbit. (*Journ. of Bact.*, 1935, 33, 47.)

38. KAHLSON (G.) et Von WERZ (R.). — Die Erregbarkeit des narkotisierten Nerven als Kriterium seiner Polarisierbarkeit ; ein Deutungsversuch der Narkotischen Erregbarkeitsaufhebung. (*Skand. Arch. Physiol.*, 1936, 74, 163.)

39. KELLAWAY (C.-H.), BURNET (F.-M.) et WILLIAMS (F.-Eleanor). — The parmacological action of the exotoxin of staphylococcus aureus. (*Journ. of Path. and Bact.*, 1930, 33, 889.)

40. KELLAWAY (C.-H.). — Snakes venoms. I. Their constitution and therapeutic applications. — II. Their peripheral action. — III. Immunity. (*Bull. Johns Hopkins Hosp.*, 1937, 60, 1-39 et 159-177.)

41. KLEINMILCH. — *Ztschr. Immunol. Forsch.*, 1909, 3, 516.

42. KOJIMA (T.) et KODAMA (T.). — Studies of staphylococcal toxin, toxoïd and antitoxin. (*Kitasato Arch. Exp. Med.*, 1939, 16, 197.)

43 KRAUS (R.) et PRIBRAM (E.). — Ueber staphylokokken toxin und dessen antitoxin. (*Wienklin. Woch.*, 1906, 19, 408.)

44. LAPICQUE (L.). — Sur les réflexes croisés asymétriques. (*C. R. Soc. Biol.*, 1942, 136, 392.)

45. LAUBENDER (W.) et SAUM (M.). — Chronaximetrische Untersuchungen über die Wirkung von Lokalanästhetika am motorischen Nerven. (*Arch. f. Exp. Path. u. Pharm.*, 1933, 171, 619.)

46. LENORMANT (H.). — Effet de l'excitation des troncs nerveux intacts au cours du tétanos expérimental. (*C. R. Soc. Biol.*, 1942, 136, n^{os} 1-2, 32.)

47. LENORMANT (H.). — Effet de la section du nerf moteur sur le tétanos local. Etude de la contraction provoquée par l'excitation du bout périphérique du nerf sectionné. (*C. R. Soc. Biol.*, 1942, 136, n^{os} 1-2, 35.)

48. LENORMANT (H.). — Physiopathologie de la contracture tétanique. (*Thèse Doct. Méd.*, Paris, 1943.)

49. LÉONARD (G.) et HOLM (A.). — A method for the production of staphylococcus toxin and toxoïd. (*Journ. of Immun.*, 1935, 29, 209.)

50. LÉVINE (B.-S.). — The unity of hoemolytic, dermonecrotic and lethal properties of staphylococcal exotoxin and of their corresponding counterparts in staphylococcal antitoxin. (*Journ. Path. and Bact.*, 1939, 48, 291.)

51. LIEB (Fr.) et REICHELT (W.). — Ueber Aminosäurestoffwechsel von Staphylokokken, Diphtariebazillen und Gramnegativen Schleimbildnern. (*Zentralb. f. Bakt.*, I, 1938, 142, 64.)

52. LIBERSON, NEOUSSIKINE et UHRY (P.). — Modifications des chronaxies musculaires chez les cobayes présentant une paralysie diphtérique localisée. (*C. R. Soc. Biol.*, 25 fév. 1933, 756.)

53. MACHT (D.-J.). — Action du venin de cobra sur le seuil de la douleur, chez l'homme et le cobaye. (*C. R. Soc. Biol.*, 1935, 120, 286.)

51. MADISON (R.-R.). — Fibrinolytic staphylococci. (*Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.*, 1935, 35, 209.)

55. MERCIER (P.). — Sur la toxinogénèse staphylococcique. (*Revue d'Immunologie*, 1939, 5, 289.)

56. MERCIER (P.) et PILLET (J.). — La toxinogénèse stapnylococcique sur l'hydrolysat de viande. Immunisation avec l'anatoxine dérivée de la toxine obtenue sur ce milieu. (*Soc. Fr. Microbiologie*, 6 décembre 1945.)

57. MERCIER (P.) et LEHOULT (Mme Y.). — La culture du staphylocoque et sa toxinogénèse sur un milieu à base d'acides aminés. (*Ann. Inst. Pasteur*, 1946, 72, nos 5-6, 468-470.)

58. MONIN (M.). — Rapports entre les staphylocoques pathogènes et les staphylocoques non pathogènes. (Thèse Doct. Pharm. (Univ.), Paris, 1943.)

59. MORGAN (F.-G.) et GRAYDON (J.-I.). — Toxins of staphylococcus with special reference, to the estimation of potency. (*Journ. Path. and Bact.*, 1936, 43, 385.)

60. MOSNY et MARCANO. — Cité par Ch. Dopter et E. Sacquepée, p. 340, *Précis de Bactériologie*, Paris, 1931, 4 édition, J.-B. Baillière et Fils, Ed.

61. MUCH. — Ueber eine Vorstufe des Fibrinferments in Kulturen von staphylokokkus aureus. (Une thrombokinase dans les cultures de staphylococcus aureus). (*Biochem. Ztschr*, 1908, 14, 143-145.)

62. NAVASQUEZ (S. de). — Experimental symetrical cortical necrosis of the kidneys produced by staphylococcus toxin : a study of the morbid anatomy and associated circulatory and biochemical changes. (*Journ. Path. and Bact.*, 1938, 46, 117.)

63. NEISSER (M.) et WECHSBERG. — Ueber das staphylotoxin. (*Ztsch. für Hyg. und Infekt.*, 1909, 36, 299.)

64. NELIS (P.). — Action de certains corps chimiques sur la toxine staphylococcique. (*C. R. Soc. Biol.*, 1933, 114, 598.)

65. NELIS (P.). — Nouveau milieu de culture pour la production de la toxine staphylococcique. (*C. R. Soc. Biol.*, 1936, 121, 724.)

66. NELIS (P.). — Action de certains corps chimiques sur la toxine staphylococcique. (*C. R. Soc. Biol.*, 1933, 114, 598.)

67. NELIS (P.). — Sur l'existence d'une paratoxine staphylococcique. (*C. R. Soc. Biol.*, 1936, 121, 808.)

68. NELIS (P.), BOUCKAERT (J.-J.) et PICARD (E.). — Contribution à l'étude de la toxine staphylococcique. (*Ann. Inst. P.*, 1934. 52, 597.)

69. NELIS (P.) et PICARD (E.). — Contribution à l'étude de la toxine staphylococcique. Etude anatomo-pathologique des lésions aiguës provoquées par ce poison. (*C. R. Soc. Biol.*, 1933, 113, 1321.)

70. NETTER (E.). — Fibrinolytic, anticoagulating and plasmaclotting properties of staphylococci. (*Journ. of Bact.*, 1937, 34, 293.)

71. NICOLLE (M.) et CESARI (E.). — Toxicité de divers échantillons. Vue d'ensemble sur les staphylocoques dorés. (*Ann. Inst. Pasteur*, 1914. 28, 219.)

72. OHASHI (S.) et HONG (L.-Y.). — Beitrag zur Kulturmethode der Staphylokokken für die Gewinnung von Filtratgift. (*Journ. Shangaï Sc. Inst.*, 1937, 4, 83.)

73. PAILLAS (J.-E.). — Formes neurologiques des staphylococcies : les paraplégies par spondylites, épidurites et myélites. (*Paris Médical*, 1943, 24, 159.)

74. PANTON (P.-N.) et VALENTINE F.-C.-O.). — Staphylococcaltoxin. (*Lancet*, 5 mars 1932, 506.)

75. PARKER (J.-T.). — The production of an exotoxin by certain strains of staphylococcus aureus. (*Journ. Exp. Med.* 1924, 11, 761.)

76. PARKER (J.-T.), WELD et GUNTHER (A.). — Differenciation between certain toxic properties of filtrates of hemolytic staphylococcus aureus. (*Journ. Exp. Med.*, 1931, 54, 315.)

77. PHILIBERT (A.) et GASTINEL (P.). — Précis de Bactériologie médicale, p. 152. (Masson édit., Paris, 4e éd. 1942.)

78. PIKE. — The depression of phagocytosis by products of staphylococci. (*Journ. of Immun.*, 1934, 26, 69.)

79. PLASENCIA PELLEZ et MARTINEZ PELOZ. — *Ann. de la Casa de Salud Valdecilla*, 1936, 7, 33.)

80. QUEVAUVILLER (A.). — Recherches sur l'excitabilité du nerf moteur au courant galvanique. Etude quantitative de ses variations et de celles de ses paramètres (chronaxie et rhéobase) sous l'influence des anesthésiques locaux. (Thèse Pharm. Sup. Paris, 1938.)

81. QUEVAUVILLER (A.). — Sur quelques propriétés pharmacodynamiques et physicochimiques des sels de quinine. Influence de l'acide. (Thèse Doct. Sc. Paris, 1943.)

82. QUEVAUVILLER (A.). — Modification complémentaire apportée à la technique chronaximétrique de J. Régnier, pour la mesure de l'activité des anesthésiques locaux sur le nerf sensitif itératif. Expression énergétique de l'excitabilité (selon H. Lasalle et L. Lapicque), en tenant compte de la résistance du nerf stimulé. (*Arch. int. Pharmacodyn.* 1944, 69, n° 3, 361-381.)

83. RAMON (G.). — Sur la production de la toxine et de l'anatoxine staphylococciques. (*C.R. Soc. Biol.* 1936, 121, 375.)

84. RAMON (G.). — Sur l'immunité antitoxique naturellement acquise. Son existence, son mécanisme. (*Revue Immunologie* 1936, 2, 205.)

85. RAMON (G.). — Ferment. Anaferment. Antiferment. (*Acad. Sc.* 6 décembre 43, P.M. 1944, 52, n° 16, 249.)

86. RAMON (G.). — Ferments, Anaferments, Antiferments. Introduction à une étude immunologique comparative avec les toxines, anatoxines, antitoxines, les virus, anavirus, antivirus. (*Acad. Méd.* 9 janvier 1945, P.M. 1945, n° 4, 44.)

87. RAMON (G.). — Antiferments d'origine naturelle dans le sérum sanguin des animaux. Anticorps véritable et principe antizymique normal. (*C.R. Acad. Sciences,* 5 juin 1944.)

88. RAMON (G.), BONNET (G.), NELIS (P.), RICHOU (R.) et THIEFFRY (St.). — Sur une méthode d'évaluation du pouvoir antigène de la toxine staphylococcique par la floculation spécifique. (*C.R. Soc. Biol.,* 1935, 119, 790.)

89. RAMON (G.) et RICHOU (R.). — Du pouvoir antigène de la toxine et de l'anatoxine staphylococcique ; sa résistance à la chaleur. (*C.R. Soc. Biol.,* 1935, 120, 290.)

90. RAMON (G.) et RICHOU (R). — Sur le dosage de la toxine staphylococcique. (*C.R. Soc. Biol.* 1936, 121, 379.)

91. RAMON (G.) et RICHOU (R.). — Réactions de certains lapins à des mélanges neutres de toxine et d'antitoxine staphylococciques ; phénomènes d'hypersensibilité naturellement acquise. (*C.R. Soc. Biol.* 1936, 121, 1064.)

92. RAMON (G.), BERTHELOT (A.) et M^lle AMOUREUX. — Sur un nouveau milieu de culture pour la production de la toxine staphylococcique. (*C.R. Acad. Sciences* 1936, 202, 515.)

93. RAMON (G.), BOCAGE (A.), BOIVIN (A.), MERCIER (P.), RICHOU (R.) et DEFRANCE (M.). — L'anatoxithérapie spécifique des affections staphylococciques. Résultats d'ensemble, progrès, précisions. (*Presse Médicale*, 1937, n° 48-50.)

94. RAMON (G.), BOIVIN (A.), RICHOU (R.). — Sur l'obtention de la toxine et de l'anatoxine staphylococcique dans un milieu de composition chimique définie. (*C.R. Acad. Sc.* 1938, 207, 466.)

95. RAMON (G.), MERCIER (P.), POCHON (J.) et M^lle AMOUREUX. — Sur la préparation, au moyen d'un nouveau milieu à base de digestion papaïnique de viande de cheval, de la staphylotoxine destinée à la production de l'anatoxine staphylococcique. (*C.R. Soc. Biol.* 1942, 136, 329.)

96. REGNIER (J.). — Méthodes de mesure de l'activité des anesthésiques locaux. (Thèse Doct. Méd., Paris 1929.)

97. REGNIER (J.) et QUEVAUVILLER (A.). — Etude quantitative de l'action des anesthésiques locaux sur le nerf isolé, par la mesure de la chronaxie et par celle de l'expression énergétique de l'excitabilité (H. Lasalle, H. Lapicque), en tenant compte des modifications de la résistance électrique du nerf produites sous l'influence des substances étudiées. (*Journ. Physiol. et Path. gén.* 1938, 36, 629 et 1021.)

98. REGNIER (J.), ARDITI (M.), BAZIN (S.) et CHANTEREAU (S.). — Détermination par mesures de conductivité des coefficients d'ionisation et des constantes de dissociation de divers sels de para-aminobenzoyldiétylamino-éthanol. (*C.R. Soc. Biol.* 1941, 135, 1505.)

99. REINERS (H.). — Ueber den Einfluss des Insulins auf die Motorische chronaxie des Kaninschens. (*Klin. Wschr.* 1936, 15, 199-201.)

100. RICHOU (R) et DJOURICHITCH (M.). — Sur la valeur immunisante de l'anatoxine staphylococcique dérivée d'une toxine obtenue dans un milieu de composition chimique définie. (*C.R. Soc. Biol.* 1939, 130, 607.)

101. RIGDON (R.-H.). — Inhibitory action of sodium chloride on skin necrosis produced by staphylococcus toxin. (*Brit. Journ. exp. Med.* 1937, 18, 265.)

102. ROCCHI. — *Policlinico sez. Med.* 1940, 47, 33.

103. RODET (A.) et COURMONT (J.). — Etude sur les produits solubles favorisants sécrétés par le staphylocoque pyogène. (*C.R. Soc. Biol.* 1891, 43, 192.)

104. ROY T.E. — The titration of α and β hoemolysins in staphylococcal toxin. (*Journ. of Immunol.* 1937, 33, 437.)

105. SARAGA (S.). — Experimental studies on the action of toxin of diphteria bacillus on the heart function. (*Japan J. exp. Med.* 1938, 16, 299-326.)

106. SCHAAF (F.) et ROBERT (P.). — Der Antigengehalt von Staphylococcus aureus - Kulturfiltraten. (*Ztschr. F. Immunol.* 1937, 90, 192).

107. SCHIOPPA (L.), — Azione della diluzione sul potere tossico delle tossine. (*Giorn. Batter. Immun.* 1937, 19, 672.)

108. SCHIOPPA (L.). — Intorno all'azione della Vitamina A sulla tossina stafilococcia. (*Giorn. Batter e Immun.* 1939, 19, 676.)

109. SCHWARTZ (J.-Ch.-E.). — Contribution à l'étude de la toxine staphylococcique. (Thèse Doct. Méd. Paris, 1937.)

110. SEIFFERT (W.) — Das staphylotoxin. (*Centralbl. f. Bakter.* 1935, 135, 100.)

111. SMITH (Margaret-Llewelyn). — The influence of glycerol on the skin necrosis produced by staphylococcus toxin. (*Brit. Journ. exp. Méd.* 1937, 18, 265.)

112. SMITH (M.-L.) et PRICE (S.-A.). — Staphylococcus β hoemolysin. (*Journ. Path. a. Bakt.* 1938, 47, 361.)

113. STOCKEY (P.-F.) et SCARPELLINO (L.-A.). — Dermonerotic properties of staphylococcus filtrates. (*South Med. Journ.* 1935, 28, 188.)

114. THIEFFRY (St.). — La toxine staphylococcique. Etude immunologique, clinique et thérapeutique. (Thèse Doct. Med. Paris 1937.)

115. TRAVASSOS (J.). — Sur l'action de la toxine staphylococcique inoculée directement dans le cerveau du cobaye et du lapin. (*C.R. Soc. Biol.* 1933, 114, 369.)

116. VAN BREUSEGHEM. — Au sujet de l'action des microbes sur la coagulation du sang. (*C.R. Soc. Biol.* 1932, 111, 159.)

117. VAN BREUSEGHEM. — Solubilité de la fibrine formée par l'action de la staphylocoagulase sur le liquide d'ascite. (*C.R. Soc. Biol.*, 1934, 115, 1235 et 1237.)

118. VAN BREUSEGHEM. — Coagulation et fibrinolyse du plasma et du fibrinogène par le staphylocoque et sa staphylocoagulase. (*C.R. Soc. Biol.* 1934, 116, 344, 650.)

119. WALBAUM (L.-E.). — Studiën über die Bildung der Bakteriellen Toxin, I. Staphylolysin. (*Biochem. Ztschr.* 122, 129, 387.)

120. WOLPERT et DACK. — *Journ. Infect. Dis.* 1933, 52, 6.

TABLE DES MATIÈRES

BUT DU TRAVAIL 7

INTRODUCTION 9

La toxine staphylococcique 9
Production de la toxine staphylococcique 11
Propriétés de la toxine staphylococcique 15
Dosage de la toxine staphylococcique 18

Méthode utilisée et subdivisions de l'exposé 27

PREMIERE PARTIE

ACTION DE LA TOXINE STAPHYLOCOCCIQUE ET DES FERMENTS SUR LE NERF MOTEUR

Chapitre premier

Fondements théoriques de la méthode 29
Préparation de la toxine staphylococcique 33

Chapitre II

Etude du milieu non toxique sur le nerf moteur 36

Chapitre III

Action de la toxine staphylococcique sur le nerf moteur 40

Chapitre IV

Action de quelques ferments sur le nerf moteur 50

DEUXIEME PARTIE

ACTION DE LA TOXINE STAPHYLOCOCCIQUE ET DES FERMENTS SUR LE NERF SENSITIF

Chapitre premier

Théorie du nerf sensitif itératif 59

Chapitre II

Action de la toxine staphylococcique sur le nerf sensitif 70

Chapitre III

Action des ferments sur la fibre sensitive 77
CONCLUSIONS 85
BIBLIOGRAPHIE 89

Imp. de Persan-Beaumont, 80, av. Wilson, Persan (S.-et-O.). Tél. 440 25.208. — Dépôt légal 23. — 1947